9789865440510
定價：350元
GPN: 1010802530

溶磷菌肥料肥（功）效評估及驗證研討會專刊

行政院農業委員會農業試驗所 編印

農業試驗所特刊第226號

溶磷菌肥料
肥（功）效評估及驗證研討會專刊

行政院農業委員會農業試驗所 編印
中華民國108年12月

溶磷菌肥料肥（功）效評估及驗證研討會專刊

Proceedings of the Symposium on Fertility and Function Assessment and its Verification for Phosphate-solubilizing Bacteria

林素禎、顏淑菁、林姿君、郭鴻裕　主編

Compiled and edited by

Su-Chen Lin, Shu-Jing Yan, Zi-Jun Lin, And Horng-Yuh Guo

行政院農業委員會農業試驗所　編印

Published by

Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan

中華民國 108 年 12 月

December, 2019, Republic of China

序

化學肥料與農藥的使用及相關農業科技的進步，為我國農業創造前所未有的成就，但隨著臺灣經濟情況改善，國民飲食習慣及對農產品安全要求也跟著改變。有越來越多的消費者注意到過多的化學肥料與農藥的使用，將會影響農產品的品質、自然生態環境與消費者的健康。因此，推動永續農業與友善環境的觀念，已廣泛受到各先進國家的重視。如何減少化學肥料及農藥的施用，而又能兼顧農業生產的質與量，已被視為農業研究的新方向。利用來自土壤中的微生物，將土壤中過多或不易利用的化學肥料重新釋放並增加植株吸收的作法，不但能符合上述的要求，且可降低農業的生產成本，確保農民的收益。

由於目前國內微生物肥料登記時得免附肥料效果試驗報告，且無定量的活性指標規範，因此常在田間施用微生物肥料產品時，出現有效或無效的不穩定反應，影響農民對微生物肥料的信心。有鑑於此，農業試驗所與農糧署、中興大學及國內各區農業改良場共同執行「生物性肥料肥(功)效評估及驗證」計畫，協助建立微生物肥料定量的活性指標與肥(功)效評估方法，俾利農糧署未來修改微生物肥料產品規範之參考，以確保微生物肥料產品品質，保障農民權益。

本研討會專刊主要彙集「生物性肥料肥(功)效評估及驗證」科技計畫在 106 年與 107 年之研究成果，包括市售溶磷菌肥料產品品質分析、溶磷菌溶磷效率特性評估、市售溶磷菌肥料盆栽肥(功)效評估，以及國內八個農業改良場共同執行的市售溶磷菌肥料之田間肥(功)效驗證。專刊中的各篇論文雖經作者群校正，但難免疏漏，期盼各界專家不吝指正，以增加學術交流、研究深度及提升研究水準。

行政院農業委員會農業試驗所所長

林學詩 謹識

中華民國一〇八年十二月

溶磷菌肥料肥（功）效評估及驗證研討會

議　程

主辦單位：　行政院農業委員會農業試驗所

時　　間：　108 年 3 月 8 日（星期五)

地　　點：　行政院農業委員會農業試驗所 農化組土壤陳列館 1F 視聽室（台中市霧峰區萬豐里中正路 189 號）

時　間	題　　　　　目	主持人/主講人
9:00～9:20	報到、領取會議資料	
9:20～9:30	**開幕式、長官致詞**	農試所長官
9:30～10:20	**專題演講** 長期水旱輪作在不同施肥處理對水稻及玉米田土壤微生物多樣性及功能之研究	楊秋忠 院士 中央研究院
	第一節　主持人	郭鴻裕 研究員兼組長 農業試驗所
10:20～10:45	市售溶磷菌肥料產品品質分析	林素禎 助理研究員 農業試驗所
10:45～11:10	溶磷菌與高磷需求作物之相容性研究	沈佛亭 副教授 國立中興大學
11:10～11:35	溶磷菌溶磷效率特性之評估	黃政華副教授 國立中興大學
11:35～12:00	市售溶磷菌肥料產品之盆栽肥（功）效評估	林素禎 助理研究員 農業試驗所
12:00～12:30	午餐及休息	

時　間	題　　　　　　　目	主持人/主講人
	第二節　主持人	楊秋忠 院士 中央研究院
12:30～12:55	利用日日春及小胡瓜作為溶磷菌肥效評估可行性研究	倪禮豐 助理研究員 花蓮區農業改良場
12:55～13:20	溶磷菌在不同磷含量土壤中對小米生長之效應	黃文益 助理研究員 臺東區農業改良場
13:20～13:45	桃園地區溶磷菌肥料效果田間驗證與整合性施肥方法之建立	湯雪溶 助理研究員 桃園區農業改良場
13:45～14:10	溶磷菌肥料在茶樹之肥 (功) 效評估及驗證	戴佳如 助理研究員 茶業改良場
14:10～14:35	生物性肥料在有機洋香瓜應用研究	黃瑞彰 副研究員 臺南區農業改良場
14:35～15:00	溶磷菌肥料應用於水芋栽培的方法與成果	蔡正賢 助理研究員 苗栗區農業改良場
15:00～15:15	休息與茶敘	
15:15～15:30	臺灣中部地區溶磷微生物肥料肥功效驗證	曾宥綋 助理研究員 臺中區農業改良場
15:30～15:55	溶磷菌在玉米生產應用	張耀聰 副研究員 高雄區農業改良場
15:55～16:20	臺灣農田土壤磷含量與分布	郭鴻裕 研究員兼組長 農業試驗所
16:20～16:45	生物炭對土壤理化性質與土壤微生物之影響	林素禎 助理研究員 農業試驗所
16:45～17:10	固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp.菌劑對有機水稻秧苗及植株生育影響之研究	張明暉 助理研究員 農業試驗所
17:10～17:40	綜合討論	全體人員
17:40～	賦歸	

目錄

長期水旱輪作在不同施肥處理對水稻及玉米田土壤微生物多樣性及功能之研究
.... 楊秋忠*、黃欣怡、林詩耀、林毓雯 1

市售溶磷菌肥料產品品質分析
.... 林素禎*、林姿君、簡宣裕 30

溶磷菌與高磷需求作物之相容性研究
.... 張鈞喆、賴威安、楊秋忠、沈佛亭* 46

溶磷菌溶磷效率特性之評估
.... 徐妤瑄、黃政華* 66

市售溶磷菌肥料產品之盆栽肥 (功) 效評估
.... 林素禎*、顏淑菁 86

利用日日春及小胡瓜作為溶磷菌肥效評估可行性研究
.... 倪禮豐* 103

溶磷菌在不同磷含量土壤中對小米生長之效應
.... 黃文益*、張繼中 111

桃園地區溶磷菌肥料效果田間驗證與整合性施肥方法之建立
.... 湯雪溶* 121

溶磷菌肥料在茶樹之肥 (功) 效評估及驗證
.... 戴佳如*、林秀橤、林金池、邱垂豐、蔡憲宗 129

生物性肥料在有機洋香瓜應用研究
.... 黃瑞彰*、江汶錦 140

溶磷菌肥料應用於水芋栽培的方法與成果
.... 蔡正賢*、吳添益 152

臺灣中部地區溶磷微生物肥料肥功效驗證
.... 曾宥綋*、郭雅紋、陳鴻堂 161

溶磷菌在玉米生產應用
.... 張耀聰*、張廖伯勳、王瓊慧 171

固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp.菌劑對有機水稻秧苗及植株生育影響之研究
.... 張明暉*、簡宣裕、鄭金滿 185

生物炭施用對蘿蔓萵苣生長、土壤理化性質及土壤微生物之影響
.... 林素禎*、彭聖宸、林姿君、張耀聰 194

Contents

Analysis of Soil Microbial Diversity and Function in Rice and Maize Fields under Long-term Upland and Lowland Rotational System in Different Fertilization Treatments .... Chiu-Chung Young*, Hsin-I Huang, Shi-Yao Lin, Yu-Weng Lin 1

Quality Analysis of Commercial Phosphate-solubilizing Bio-fertilizer Products .... Su-Chen Lin*, Zi-Jun Lin , and Shiuan-Yuh Chien 30

Compatibility of Phosphate Solubilizing Bacteria Toward Crops with High Phosphorus Demand................Chun-Tse Chang, Wei-An Lai, Chiu-Chung Young, and Fo-Ting Shen* 46

Evaluation of Phosphate-solubilizing Efficiency Characters of Phosphate-solubilizing Bacteria...Yu-Syuan Hsu, Cheng-Hua Huang* 66

Fertility Efficacy Evaluation of Commercial Phosphate-solubilizing Biofertilizers .... Su-Chen Lin* and Shu-Jing Yan 86

The Assessment of Phosphate-Solubilizing Microbial Fertilizer by Periwinkle and Cucumber ....Li-Feng Ni* 103

Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria on the Growth of Millet in Soil with Different Phosphorus Content...Wen-Yi Huang* and Chi-Chung Chang 111

Establish Integrated Fertilization Methods and Evaluation with Verification of Microbial fertilizers Effect in Tao-yuan District....................................Hsueh-Jung Tang* 121

Evaluation and Verification of Phosphorus-solubilizing Bacteria Fertilizer on Tea Plant .... Jia-Ru Dai*, Shiou-Ruei Lin, Jin-Chih Lin, Chui-Feng Chiu, and Hsien-Tsung Tsai 129

Studies on Application of Biofertilizers in Production of Prganic Muskmelons .... Jui-Chang Huang* and Wen-Jin Jiang 140

Methods and Effects of Phosphate-solubilizing Microbial Fertilizers Application at Taro in Paddy Field...Jeng-Hsien Tsai*, Tian-Yih Wu 152

Field Verification of Phosphate-solubilizing Bacteria in Central Taiwan .... You-Hong Zeng*, Ya-Wen Kuo and Hong-Tang Chen 161

Applications of Phosphorus Solubilizing Bacteria in *Zea mays* Production .... Yao-Tsung Chang*, Po-hsun Chang Liao, Chiung-hui Wang 171

The Research of the Effect of *Azospirillum* sp. Inoculant on the Seedling, Growth and Yield of Organic Rice .... Ming-Hui Chang*, Shiuan-Yuh Chien, Chin-Man Cheng 185

The Influence of Biocharcoal Amendment on the Growth of Romaine Lettuce, the Soil Physical-Chemical Properties and Microbial Flora .... Su-Chen Lin*, Shen-Chyu Peng, Zi-Jun Lin, and Yao-Tsung Chang 194

長期水旱輪作在不同施肥處理對水稻及玉米田土壤微生物多樣性及功能之研究

楊秋忠[1,*]、黃欣怡[2]、林詩耀[3]、林毓雯[4]

摘要

本研究計畫之試驗田區長期以水稻與玉米進行輪作，自 1995 年至今逾 20 年之久，田區施肥管理策略以多種處理(化肥、堆肥、綠肥、泥炭及對照組)進行逢機完全區集設計(RCBD)，在不同生長時期採集土壤分析。碳源利用測定結果顯示，堆肥加 2/3 化學氮肥處理組中慢生型微生物族群數量多於其他處理，而快生型微生物族群數量則少於其他處理，微生物活性 (AWCD) 與多樣性 (Shannon) 皆為傳統化肥處理最低。PacBio 16S rDNA 之全長定序及分析結果可觀察到，微生物之組成受到作物之影響大於處理。對照組處理的 Chao 1 值 (豐富度) 受到採樣時間點的影響較大。在玉米期時，各處理間之 Shannon 值差異較大，水稻期各處理差異較小，傳統化肥組處理之 Shannon 值隨採樣期變動最大，堆肥加 2/3 化肥組處理次之。主成分分析圖中顯示，樣品大致以作物種類分成兩大群，與親緣關係圖 UPGMA 結果相似，但玉米齊膝期時各處理微生物相之差異較大。加權後的貝塔指標顯示，對照組與堆肥添加 1/3 化肥的處理組有較高的生物多樣性。綠肥添加 1/3 化肥與泥炭添加 1/3 化肥的處理組，其生物多樣性相似度較高。細菌的種類及數量 OTU heatmap 圖顯示，栽種玉米田區的土壤樣品，其生物多樣性的相對豐度明顯高於栽種水稻的土壤。水稻及玉米產量中，對照組水稻收穫最低，化肥及堆肥加化學氮肥的處理，作物收穫有較高的趨勢且兩者產量接近；玉

[*] 通訊作者：ccyoung@mail.nchu.edu.tw
[1] 中央研究院院士、國立中興大學土壤環境科學系教授。台灣 台中市。
[2] 國立中興大學土壤環境科學系研究助理。台灣 台中市。
[3] 國立中興大學土壤環境科學系博士後研究員。台灣 台中市。
[4] 農委會農業試驗所農業化學組副研究員。台灣 台中市。

米收穫情況與水稻相似。堆肥處理之土壤，在水稻及玉米產量，皆與化肥處理無顯著差異，甚至有些年度水稻產量高過化肥處理。

關鍵詞：水稻、玉米、水旱輪作、微生物、固氮活性、微生物族群、生物多樣性、PacBio。

前言

農業生態系物質循環中土壤微生物扮演重要角色，土壤微生物參與各種養分代謝以維持土壤地力外，並與農作物生產量與品質有密切相關 (楊 2007) 。傳統研究微生物多樣性方法是觀察微生物在培養基上生長菌落的多樣性，但對未能在培養基上培養生長的微生物就無法知曉，近年來由於分子生物學的技術有顯著進展，在農業生態系土壤微生物研究中，未能培養之微生物及長期不同田間施肥管理與水旱輪作系統下對微生物群落影響之研究仍甚為缺乏，實有必要建立有效之分子生物學的技術，以便建立長期生態系微生物的多樣性之基本資料及評估。土壤中可經培養的微生物僅在 1%以下 (Atlas & Bartha 1998) ，即有大量不可培養微生物，可利用次世代定序技術 (NGS) 分析建立土壤基因型圖譜之資料，同時配合土壤理化性質、土壤固氮活性、生化反應分析碳源利用率等，可建構出土壤微生物與土壤肥力及土壤生產力之網絡關係。從土壤直接萃取微生物 DNA，經 PCR 結合次世代定序技術對細菌之 16S rRNA 基因分析微生物族群結構 (Weinstock 2012)，可瞭解受到水旱輪作栽培生態系的土壤微生物多樣性，及探討不同肥料處理對農田土壤中微生物種類之影響。

材料與方法

一、長期水旱輪作之水稻及玉米生態系田區：

長期水旱田輪作之農業生態系田區已在 1995 年 8 月開始建立至今，此栽培系統每年均依照所設計相同之處理方式，其土壤、作物、肥料及田間設計如下：

(一)土壤：

田間試驗地點於台中縣霧峰鄉行政院農委會農業試驗所之 35 號試驗田，土壤為砂頁岩非石灰性新沖積土，七塊厝系，屬壤質土壤，1995 年 8 月試驗開始時，

測定之土壤性質為：pH (1:1) 為 5.3，陽離子交換容量為 7.4 cmol kg^{-1}，交換性鉀、鈣、鎂、鋁、鋅、錳、銅及鐵分別為 74、625、149、0.23、4.3、62、4.6 與 891 mg kg^{-1}，Bray No. 1 法可萃取磷為 14.8 mg kg^{-1}。

(二) 水旱田選用相同之水稻及玉米作物品系如下：

1. 水稻 (*Oryza sativa* L., cv. TN No.67) ：台農 67 號水稻，於每年第一期栽種。
2. 玉米 (*Zea mays* L., cv. TN No.1) ：台農 1 號飼料玉米，於每年第二期栽種。

(三) 肥料：每年水旱田施用相同之肥料係依「作物施肥手冊」之推薦用量，種類及施肥量如下：

1. 水稻施用三要素肥料之 N-P_2O_5-K_2O 用量為 120-60-60 kg/ha，所使用之化學肥料分別為硫酸銨、過磷酸鈣及氯化鉀，有機資材為： (1) 豬糞堆肥、 (2) 綠肥一期水稻採用埃及三葉草、二期玉米採用田菁 (因不宜冬天生長，春作水稻只能用埃及三葉草) 及 (3) 泥炭。
2. 玉米施用三要素肥料之用量 N-P_2O_5-K_2O 為 140-80-80 kg/ha，所使用之化學肥料有尿素、過磷酸鈣與氯化鉀，有機資材為台灣農民常用之豬糞堆肥、田菁 (*Sesbania roxburghii* Merr)、埃及三葉草 (*Trifolium alexandrinum*) 及不易分解之泥炭 (peat) 。

(四) 田間設計處理：

田間處理為 7 種施肥處理 (各 4 重複) 採用 RCBD 設計，磷及鉀肥均為同量，各處理如下：

1. 對照：自然地力之對照，不施任何肥料、資材。
2. 傳統化學肥料區：以施肥手冊推薦化學肥料施用量，做為有機質肥料之相對含氮量比較。
3. 堆肥 + N0：有機質堆肥處理，只有堆肥之氮，不加化學 N。
4. 堆肥 + N1：有機質堆肥處理，即堆肥外，加化學 N 肥之 1/3 量。
5. 堆肥 + N2：有機質堆肥處理，即堆肥外，加化學 N 肥之 2/3 量。
6. 綠肥 + N1：即綠肥外 (夏季以田菁、冬季以埃及三葉草)，加 1/3 化學 N 肥。
7. 泥炭 + N1：即泥炭外，加化學 N 肥之 1/3 量。

二、土壤及水稻及玉米樣品採集及處理

土壤採集及分析：依水稻之分蘗期與結穗期，玉米之齊膝期與開花期各別採樣二次。每處理每重複採 5 點土樣 (表土 10 cm) 混合後裝於樣品袋中帶回實驗

室，於室溫下風乾後過篩 (2 mm 篩網) 並混合均勻，將土壤樣品放入樣品袋中保存於 4℃冰箱中待用分析 (Krsek & Wellington 1999)。

三、細菌及真菌群落結構分析

(一) 菌種培養基製備與培養條件：

分別製備細菌及真菌分離常見之 nutrient agar (NA, HiMedia) 及 potato dextrose agar (PDA, Difco)培養基，用以分離土樣之微生物。取樣品後利用無菌水進行 10 倍連續稀釋，並將稀釋液均勻塗抹於平板培養基上，於 30℃培養 3-7 天。

(二) 菌落挑選、基因型分析及菌種鑑定：

(1) 菌落挑選：於 NA 平板培養基上，將可代表各處理樣品中之可培養細菌，針對不同處理挑選菌落型態各異之菌株，菌落型態則依顏色、形狀、邊緣、皺摺等特性予以區別。

(2) 可培養菌種鑑定：將上述可代表不同處理之細菌菌株進行菌種鑑定，以瞭解其分類地位 (Shen *et al*. 2005)。本研究利用 MO BIO 公司所提供的微生物染色體 DNA 萃取套組 (UltraClean™ Microbial Genomic DNA Isolation Kit, MO BIO Laboratories, Inc., USA) 進行 DNA 萃取。以 16S rRNA 基因泛用性引子 1F 與 9R，利用可控溫之熱循環機進行 PCR 增殖。PCR 所得之 DNA 產物進行定序。將定序之 DNA 序列與 GenBank 等資料庫中已知菌種序列進行比對，所得結果即為菌種鑑定之依據。

(3) 利用核酸偵測法分析細菌族群多樣性：每一重複取 50 g 土壤，同處理共 4 重複 200 g 土壤混合後，去除植物殘體、石礫等雜質，加入 70 mL 無菌水，使土壤樣品呈泥漿狀，以離心球磨式粉碎均質機 (S100, Retsch®) 進行樣品均質化，離心轉速為 250 rpm、時間為 20 min。利用 MO BIO 套組萃取微生物 DNA，進行下列實驗：

a. 將抽取之土壤微生物 DNA 以 GC-4F、5R 引子進行 PCR 擴增 16S rRNA 基因片段 (產物大小介於 400–500 鹼基對)，再以變性梯度膠體電泳 (Dcode™ Universal Mutation Detcetion System, Biorad, DGGE)，使用 6 % 之聚丙烯醯胺膠片，變性梯度 45–65%，以 60℃、60 V 之反應條件進行電泳 16 h。區分不同處理間的微生物族群，電泳膠片以 ErBt 染色後

以影像擷取系統拍照並以軟體 (Kodak 1D 3.5, Kodak, USA) 分析不可培養之細菌族群多樣性。

b. 土壤微生物族群高通量序列分析：本研究利用 MO BIO 公司所提供的土壤微生物染色體 DNA 萃取套組 (UltraClean™ PowerSoil DNA Isolation Kit, MO BIO Laboratories, Inc., USA) 進行採樣土壤 DNA 萃取。委託業者進行第三代定序 PacBio (Pacific Bioscience) 技術之高通量序列分析，分析序列區間為高變異區 V1-V9，序列長度約為 1500 bps，採用技術為目前坊間定序分析序列中最長的分析技術，可提供更準確的比對結果。序列資料經由 SMRTLink 整理，再用 Mothur 軟體去除嵌合體DNA，相似度97 % 以上的序列歸納為一個OTUs (Operational Taxonomic Units) 並視為同一物種，再將各 OTUs 與 GreenGenes 菌種資料庫比對獲得各樣品的物種組成資料，另以 OTUs 的數量與種類等資料進行 Alpha diversity 及 Beta diversity 等樣品間的多樣性分析。

四、土壤固氮活性及碳源利用分析

(一) 游離固氮活性測定：採用土柱管垂直插入試驗田區，採集土柱高度約 5 cm，以矽膠塞塞住土柱管底部，血清塞塞住頂部，以針筒吸取 5 mL 管內氣體，再置換入 5 mL 乙炔氣體，反應 24 h 後經氣相層析儀測定管內乙烯濃度，以乙炔還原活性代表試驗田區中土壤之游離固氮活性(Koch & Evans 1996；Hardy 1973)。

(二) 土壤碳源利用測定：每一重複取 50 g 土壤，同處理共 4 重複 200 g 土壤混合後，去除植物殘體、石礫等雜質，以均質機均質土樣，將土壤懸浮液接種至 Biolog MicroPlates 96 微孔盤後置於 30℃培養箱中培養 3 d，將反應所得之平均呈色結果以主成分分析 (principle components analysis, PCA) 軟體進行比對，將反應所得之平均呈色結果 (average well color development, AWCD) 以主成分分析 (principle components analysis, PCA) 軟體進行比對，可由碳源利用圖譜的差異性反應出微生物群落之差異。研究採樣期間使用市售套組 Biolog EcoPlate™ 系統分析田區內微生物對不同碳源的利用狀況，建立微生物群落對碳源利用之基本資料 (Harch *et al*. 1997)。此系統中已涵蓋 3

重複之設計，共包括 31 種碳源可供測試，並可將反應結果作為碳源利用之指紋圖譜。Gomez 等人在 2006 年的文獻中指出 Biolog EcoPlate™ 可以靈敏分析出短期內不同農地管理策略對 community level physiological profiles (CLPPs)的變化，而 average well-color development (AWCD) 為其討論的指標之一，其計算方式為 ΣODi/31，ODi 意旨套組 Biolog EcoPlate™ 中每個槽位的吸光值，此指標反映出土壤微生物在 Biolog EcoPlate™ 中對不同碳源的氧化能力，數值也可當作為微生物活性的指標；若以豐富度 R 值 (richness) 比較不同施肥處理田區中微生物碳源利用的數量，則可瞭解該施肥處理中微生物族群能利用作為養分來源的碳源數量；Shannon-Weaver index (H) 則是以土壤微生物對於碳源的可利用數量來評估該環境中土壤微生物的多樣性，計算公式表示為 –Σpi (lnPi) 。

(三) 資料整理及分析：本研究將於作物不同生育階段建立不同施肥處理下之土壤固氮活性及碳源利用資料，了解土壤固氮活性在時間及空間上之變異特性，此外以碳源利用圖譜所獲得之資訊掌握土壤微生物受到施肥處理之影響，期能藉由土壤生態功能之分析評估較佳之施肥處理方式。

結果與討論

本研究計畫之試驗田區長期以水稻與玉米進行輪作，自 1995 年至今逾 20 年之久，田區施肥管理策略以多種處理 (化肥、堆肥、綠肥、泥炭及對照組) 進行逢機完全區集設計(RCBD)，自玉米齊膝期 (MT)、開花期 (MF)、水稻分蘗期 (RT) 及水稻結穗期 (RF) 進行土壤採集分析。本計畫執行期間設計於玉米齊膝期、玉米開花期、水稻分蘗期及水稻結穗期進行土壤採樣，分析試驗田區土壤基本性質的變化，包括：pH、EC 值、有機質及有效性磷、鉀、鈣、鎂、銅、鋅等元素含量；測定田區微生物之游離固氮活性、不同種類之碳源利用情形，並進行根圈微生物之篩選、培養及純化。

田區內游離固氮活性之測定結果如表 1 所示：經比較水稻作物其根圈於 2016 年分蘗期 (灌水) 與結穗期之固氮活性後發現，化肥施用情況下快速提供作物氮

表 1. 長期水旱田輪作之土壤乙炔還原活性 (2001-2017)

			Acetylene reduction activity (nmole C_2H_4 g^{-1} soil $24hrs^{-1}$)						
Date	Crop	Stage	CK†	CF	Comp	Comp+1/3 N	Comp+2/3 N	GM+1/3 N	Peat+1/3 N
2001									
Jan.31	Maize	harvested	1.56a	1.28a	1.70a	1.39a	1.35a	1.60a	1.43a
Mar.21	Rice	27 days after planting	1.30a	1.32a	1.32a	1.38a	2.04a	1.38a	1.48a
May.1	Rice	68 days after planting	3.95abc	2.03bc	5.45ab	5.97ab	2.33bc	1.20c	6.75a
June.27	Rice	harvested	5.30a	1.75ab	3.82ab	4.53ab	1.64ab	1.04b	1.75ab
Nov.1	Maize	28days after planting	0.91a	0.86a	1.24a	0.98a	0.88a	0.84a	0.89a
Dec.12	Maize	68 days after planting	1.02ab	0.97b	1.13ab	0.99b	1.05ab	1.00b	1.19a
2002									
Jan.28	Maize	harvested	2.58a	2.01ab	2.45ab	2.20ab	2.17ab	2.40ab	1.80b
Mar.30	Rice	30 days after planting	1.04a	1.73a	1.04a	1.13a	1.25a	1.06a	0.95a
Apr.29	Rice	60 days after planting	9.94a	2.69a	8.15a	23.60a	3.00a	4.82a	21.90a
July.1	Rice	harvested	4.30a	0.68b	4.32a	2.69ab	0.75b	0.67b	2.90a
Nov.4	Maize	34 days after planting	0.42a	0.33a	0.65a	0.57a	0.42a	0.32a	0.53a
2003									
Jan.28	Maize	harvested	0.90a	0.68ab	0.80ab	0.76ab	0.74ab	0.57b	0.61ab
Apr.7	Rice	34 days after planting	0.45a	0.45a	0.62a	0.63a	1.26a	0.75a	0.46a
July.7	Rice	harvested	2.26a	1.01c	2.49ab	1.47bc	1.73bc	1.48bc	3.54a
Oct.20	Maize	33 days after planting	1.95a	1.16a	1.65a	1.91a	1.23a	1.15a	1.27a
2004									
Feb.2	Maize	harvested	1.97a	1.07b	1.30ab	0.91b	0.79b	0.70b	1.33ab
Mar.29	Rice	32days after planting	0.55a	0.80a	1.54a	1.08a	0.69a	0.88a	1.23a
June.23	Rice	harvested	1.33a	0.60a	2.17a	0.63a	0.68a	0.78a	0.79a
2005									
Feb. 16	Maize	harvested	1.23a	0.14b	0.60ab	--	--	--	--
Nov.. 7	Maize	34 days after planting	1.32a	2.12a	2.77a	--	--	--	--
2006									
Feb. 7	Maize	harvested	4.00	2.00	1.58	--	--	--	--
Mar. 30	Rice	49 days after planting	1.11a	0.99a	1.2a	--	--	--	--
Jul.3	Rice	harvested	4.24	0.20	3.30	--	--	--	--
Nov.6	Maize	36 days after planting	3.20	0.74	2.48	--	--	--	--
2007						--	--	--	--
Jan..31	Maize	harvested	0.34	0.29	0.53	--	--	--	--
Apr.10	Rice	49 days after planting	0.25	0.25	0.22	--	--	--	--
June,28	Rice	harvested	0.34	0.43	0.35	--	--	--	--
Nov.	Maize	plating	0.96a	0.03b	1.14a	--	--	--	--
2008									
Feb.	Maize	harvested	1.63a	0.04b	0.88ab	--	--	--	--
Jul.	Rice	harvested	2.56	1.75	3.68	--	--	--	--
Nov.	Maize	planting	0.91a	0.67a	0.89a	--	--	--	--
2009									
Feb.10	Maize	harvested	1.22a	0.24b	0.26b	--	--	--	--
Apr.16	Rice	tillering	1.63a	0.22b	1.35a	--	--	--	--
July.2	Rice	harvested	1.94a	0.43b	2.78abc	1.35a	0.31bc	1.05ab	0.36bc
Oct.22	Maize	planting	0.05a	0.09a	0.06a	0.05a	0.07a	0.06a	0.05a
2010									
Jan.13	Maize	harvested	0.30a	0.03b	0.12a	0.07ab	0.05b	0.05ab	0.12ab
Mar. 24	Rice	tillering	0.52b	0.73b	1.6ab	2.53a	2.16a	0.91bc	1.01b
Jan. 28	Rice	harvested	0.28ab	0.14b	0.4ab	0.63a	0.93a	0.16b	0.3ab
Oct. 27	Maize	27 days after planting	0.60b	0.61b	0.79a	0.75a	0.77a	0.61b	0.70a
2011									
July	Rice	harvested	0.9a	0.93a	1.15a	0.82a	0.97a	1.00a	1.17a
Oct.19	Maize	27 days after planting	0.23ab	0.1475b	0.275a	0.195ab	0.185ab	0.265a	0.2025ab
Nov.2	Maize	41days after planting	0.236a	0.216a	0.282a	0.283a	0.155a	0.241a	0.299a
2012									
Jan.16	Maize	harvested	0.59a	0.22b	0.20b	0.18b	0.22b	0.19b	0.16b
Apr.23	Rice	64 days after planting	3.47a	0.64b	2.09ab	2.03ab	1.01ab	0.91ab	3.18ab
Jun.8	Rice	harvested	0.17a	0.09b	0.09b	0.08b	0.07b	0.04b	0.07b
Nov.12	Maize	46 days after planting	0.42a	0.42a	0.44a	0.47a	0.42a	0.49a	0.43a
2013									
Jan.16	Maize	harvested	5.98a	0.95b	1.48b	0.88b	1.20b	0.44b	0.79b
Mar.1	Rice	45 days after planting	2.01a	1.47a	1.85a	2.07a	1.23a	1.28a	1.8a
Jun.27	Rice	harvested	1.65a	1.11a	1.64a	1.76a	0.98a	1.1a	1.45a
Oct.29	Maize	37 days after planting	0.27a	0.15abc	0.10c	0.12abc	0.04c	0.25ab	0.11bc
Dec.12	Maize	81 days after planting	0.17a	0.08b	0.10ab	0.11ab	0.12ab	0.09ab	0.08b
2014									
Apr.14	Rice	43 days after planting	0.42c	0.44bc	0.48bc	0.69a	0.53abc	0.54abc	0.62ab
May.28	Rice	87 days after planting	4.1a	0.15b	3.27a	0.51b	0.39b	0.2b	3.05a
Nov.06	Maize	44 days after planting	0.07a	0.02b	0.06ab	0.06ab	0.03ab	0.05ab	0.05ab
Dec.18	Maize	85 days after planting	0.23a	0.25a	0.17a	0.12a	0.1a	0.1a	0.05a
2015									
Apr.14	Rice	44 days after planting	0.93a	0.42a	0.95a	0.9a	1.32a	0.58a	1.5a
Jun.09	Rice	100 days after planting	0.78a	0.07b	0.73ab	0.05b	0.25ab	0.05b	0.34ab
Nov.25	Maize	55 days after planting	0.15a	0.19a	0.17a	0.21a	0.17a	0.19a	0.20a
2016									
Apr.20	Rice	40 days after planting	1.01 a	0.44 b	0.52ab	0.51 ab	0.48 b	0.51 ab	0.58 a
Jun.14	Rice	94 days after planting	0.73 a	0.89 a	0.78 a	0.38 a	0.58 a	0.46 a	0.24 a
Dec. 01	Maize	45 days after planting	0.36 a	0.06 b	0.11 b	0.04 b	0.08 b	0.07 b	0.08 b
2017									
Jan.09	Maize	84 days after planting	0.37 a	0.19 a	0.26 a	0.25 a	0.24 a	0.20 a	0.20 a
May.04	Rice	42 days after planting	0.97a	1.17a	0.98a	0.84a	1.05a	1.10a	0.71a
Jun.13	Rice	82 days after planting	1.22a	0.97a	1.14a	1.01a	1.08a	1.20a	1.15a
Nov 16	Maize	48 days after planting	1.03a	0.51a	0.67a	0.45a	0.41a	0.38a	0.68a
Dec 28	Maize	90 days after planting	0.27a	0.13a	0.20a	0.17a	0.30a	0.17a	0.18a
2018									
Apr 19	Rice	37 days after planting	0.56	0.89	0.86	0.56	0.46	0.53	0.55

肥，導致化肥處理組別的固氮活性偏低，而其他處理組別亦低於不經施肥的對照組；隨著作物生長期增長，固氮活性些微提昇，推測由於水稻作物對於銨態氮利用率高於硝酸態氮，當水田處於厭氧狀態下導致脫氮作用，促進根圈固氮活性作用。綠肥與泥炭處理由於氮素缺乏，根圈微生物處於厭氧、好氧交錯環境不利於固氮酵素的作用，導致固氮活性降低。玉米作物於齊膝期與開花期之固氮活性變化，除對照組之外均有所提昇。玉米齊膝期之乙炔還原活性範圍為 0.04-0.36 nmole C_2H_4 g^{-1} soil 24 hrs^{-1}，玉米開花期為 0.19-0.37 nmole C_2H_4 g^{-1} soil 24 hrs^{-1}，傳統化肥組之游離固氮活性皆較其他處理低，而對照組之活性皆為最高且在齊膝期與其他處理有顯著差異，而其他處理之間並無差異，但水稻分蘗期中，傳統化肥組之固氮活性為最高，顯示此組之變動較其他處理大。

土壤之理化分析結果如表 2 所示，化肥組之土壤 pH 介於 4.67-4.80 之間，為所有施肥處理中最低，而在玉米齊膝期之堆肥處理，其 pH 測值 5.94 為所有處理最高，玉米開花期則以堆肥加 1/3 化學氮肥的 5.85 為最高；土壤電導度 (EC) 以對照組之 204 及 175 µs cm^{-1} 為最低，玉米齊膝期以化肥組的 592 µs cm^{-1} 最高，玉米開花期則是泥炭土加 1/3 化學氮肥的 558 µs cm^{-1} 最高。各施肥處理的田區土壤經元素分析，結果顯示添加堆肥的三個處理，而銅含量則顯著偏低，泥炭土添加 1/3 化學氮肥處理的鈣、鎂含量為所有處理中最高，但資材分析泥炭土的鈣鎂含量並無明顯高於其他資材，推測應是有機質造成的影響。堆肥組的三個處理及泥炭+1/3 化肥組之土壤全氮含量顯著高於其他處理，與有機質含量成正相關。

在碳源利用測定方面，表 3、表 4、表 5、表 6、表 7、表 8 及表 9 為不同施肥處理田區土壤樣品在不同孵育時間所測得及計算的 R 值、AWCD 值及 Shannon-Weaver index：玉米作物於齊膝期中，各處理的 R 值在 72 小時並無差異，但堆肥加 1/3 化學氮肥處理的 R 值在 48 小時比其他處理略低，此處理中快生型微生物族群數量可能較少，而微生物活性及多樣性均以傳統化肥組最高，但在玉米開花期中，傳統化肥組的微生物活性與多樣性皆為最低，顯示傳統化肥組的微生物族群相對不穩定。水稻分蘗期的田間處於淹水狀態，R 值比前兩次採樣低，其中堆肥加 2/3 化學氮肥處理在 48 小時的 R 值最低，但在 72 小時的 R 值最高，顯示其慢生型微生物族群數量多於其他處理，而快生型微生物族群數量則少於其他處理，微生物活性與多樣性皆為傳統化肥處理最低，綠肥加 1/3 化學氮肥處理也偏低，其餘處理差異不大。泥炭+1/3 化學氮肥組初期偏低，活性至 72 小時增長至最高，增長快速。

表 2. 土壤分析結果

(a) 2016/12/01 玉米齊膝期土壤分析

treatment	pH	EC (μs cm^{-1})	OM (%)	N (mg g^{-1})	Mehlich No.3 (mg Kg^{-1})					
					P	K	Ca	Mg	Cu	Zn
Control	5.54bc	204b	2.1	1.77	2.08a	85.97c	1123.64c	187.27b	2.16a	5.31b
Chemical	4.69e	592a	2.9	1.67	2.16a	127.65b	919.22c	127.83d	2.19a	6.24b
Compost	5.94a	383ab	3.9	1.93	1.33b	174.31a	1681.78b	169.88b	1.19b	8.84a
Compost+1/3N	5.67ab	383ab	3.7	2.14	1.43b	147.75ab	1601.69b	167.91b	1.32b	9.50a
Compost+2/3N	5.34cd	526a	4.0	2.14	1.37b	140.33b	1581.67b	163.87bc	1.16b	9.03a
GM+1/3N	5.07d	438a	3.5	1.75	2.02a	152.53ab	1061.66c	141.68cd	2.14a	5.72b
Peat+1/3N	5.13d	471a	8.0	2.37	0.88v	150.78ab	2148.71a	219.35a	0.52c	5.48b

(b) 2017/01/09 玉米開花期土壤分析

treatment	pH	EC (μs cm^{-1})	OM (%)	N (mg g^{-1})	Mehlich No.3 (mg Kg^{-1})					
					P	K	Ca	Mg	Cu	Zn
Control	5.62ab	175b	2.7	1.30	1.73a	71.38c	914.64c	200.86b	1.64a	5.3b
Chemical	4.67e	385ab	2.9	1.35	1.73a	101.46bc	738.56d	137.86d	1.67a	6.4b
Compost	5.76a	379b	3.4	1.84	0.76c	198.84a	1465.22b	179.17bc	0.51c	9.51a
Compost+1/3N	5.85a	281ab	3.4	1.84	0.76c	141.80b	1313.78b	172.64bc	0.49c	9.51a
Compost+2/3N	5.41bc	451ab	3.9	1.86	0.73c	126.99b	1290.41b	198.9c	0.45c	8.96a
GM+1/3N	5.08d	313ab	2.9	1.61	1.39b	121.81b	816.91cd	140.63d	1.26b	5.49b
Peat+1/3N	5.21cd	558a	9.5	2.45	0.2d	126.53b	2093.45a	240.32a	0d	5.24b

(c) 2017/05/04 水稻齊膝期土壤分析

treatment	pH	EC (μs cm^{-1})	OM (%)	N (mg g^{-1})	Mehlich No.3 (mg Kg^{-1})					
					P	K	Ca	Mg	Cu	Zn
Control	5.15bc	403b	2.7	1.40d	21.25b	68.81b	927.07c	174.20bc	2.55a	6.17c
Chemical	4.80d	464ab	3.3	1.47cd	32.75ab	130.89a	782.75c	141.98d	6.23a	6.66c
Compost	5.40ab	564a	3.9	1.65c	48.15a	111.06ab	1304.44b	170.84bc	1.98b	9.04b
Compost+1/3N	5.50a	536ab	3.9	1.90b	43.84a	106.54ab	1411.98b	177.65b	1.56b	10.70a
Compost+2/3N	5.40b	576a	4.2	1.90b	47.29a	102.99ab	1394.79b	183.48b	1.47b	9.31b
GM+1/3N	4.91bcd	483ab	3.5	1.53cd	33.20ab	97.47ab	864.76c	147.38cd	2.24ab	7.11c
Peat+1/3N	5.35ab	523ab	8.7	2.21a	23.18b	91.83ab	2176.34a	241.45a	0.40b	7.30c

(d) 2017/06/13 水稻結穗期土壤分析

treatment	pH	EC (μs cm^{-1})	OM (%)	N (mg g^{-1})	Mehlich No.3 (mg Kg^{-1})					
					P	K	Ca	Mg	Cu	Zn
Control	5.08b	275b	3.2	1.43c	13.03c	54.60d	919.39c	179.24bc	2.12a	7.83d
Chemical	4.76c	258b	2.9	1.40c	27.14b	59.53cd	742.14c	150.32d	2.21a	8.88cd
Compost	5.31a	320b	3.2	1.78b	45.95a	82.76a	1301.53b	176.05bc	1.14b	12.82b
Compost+1/3N	5.27ab	318b	4.3	1.89b	46.05a	81.10a	1349.37b	176.66bc	1.11b	14.79a
Compost+2/3N	5.06b	374b	4.1	1.75b	41.60a	72.69abc	1387.28b	187.48b	1.04b	13.16b
GM+1/3N	4.83c	483a	3.0	1.43c	24.61b	63.50bcd	799.47c	156.88cd	2.17a	9.36c
Peat+1/3N	5.13ab	523a	9.3	2.24a	26.34b	75.79ab	2333.34a	247.40a	0.21c	7.99cd

* Values indicated with the same letter within a row are not significantly different ($p<0.05$) by duncan

表 2. 土壤分析結果 (續)

(e) 2017/11/16 玉米齊膝期土壤分析

treatment	pH	EC (µs cm^{-1})	N (mg g^{-1})	Mehlich No.3 (mg Kg^{-1})					
				P	K	Ca	Mg	Cu	Zn
Control	5.47b	185c	1.47	17e	73c	1040c	191b	1.60a	7.13b
Chemical	4.48e	716ab	1.59	35d	95bc	951c	149c	1.72a	8.07b
Compost	5.82a	317bc	1.93	69bc	133ab	1697b	188b	0.60b	11.58b
Compost+1/3N	5.31bc	801ab	2.04	94a	164a	1955b	188b	0.62b	25.79a
Compost+2/3N	5.18cd	788ab	2.25	85ab	133ab	1896b	189b	0.50b	11.88b
GM+1/3N	4.62e	580abc	1.62	37d	106bc	983c	144c	1.80a	7.90b
Peat+1/3N	5.01d	869a	2.47	64c	114b	2747a	253a	0.19b	6.75b

(f) 2017/12/28 玉米開花期土壤分析

treatment	pH	EC (µs cm^{-1})	N (mg g^{-1})	Mehlich No.3 (mg Kg^{-1})					
				P	K	Ca	Mg	Cu	Zn
Control	5.48ab	258c	1.27	44c	85c	1156d	184bc	1.32ab	7.56d
Chemical	4.66c	552abc	1.54	66ab	92c	953d	137d	1.57a	8.17c
Compost	5.63a	691ab	1.89	127a	149ab	1842bc	185bc	0.69cd	11.60b
Compost+1/3N	5.18ab	680ab	2.02	110ab	165a	1544cd	171bcd	0.97bc	11.41a
Compost+2/3N	5.23ab	910a	2.20	111ab	116bc	2234ab	205ab	0.46cd	9.61cd
GM+1/3N	4.96bc	309bc	1.53	47c	80c	893d	150cd	1.82a	7.13b
Peat+1/3N	5.41b	655abc	2.39	78bc	113bc	2629a	247a	0.27d	7.86a

* Values indicated with the same letter within a row are not significantly different ($p<0.05$) by duncan

表 3. 2016/12/01 玉米齊膝期土壤微生物經培養後的 R_{72} 值、$AWCD_{72}$ 值及 Shannon-Weaver index

(a) R_{72} 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	26	27	27	23	26	26	28
60	28	29	29	28	29	29	29
72	29	30	30	30	30	30	30

(b) $AWCD_{72}$ 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	0.6313	0.6834	0.6804	0.6160	0.6527	0.5950	0.5799
60	0.7611	0.8840	0.8751	0.7444	0.8278	0.7567	0.7578
72	0.8389	0.9822	0.9777	0.8607	0.9268	0.8852	0.8764

(c) Shannon-Weaver index

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	3.229	3.256	3.230	3.189	3.250	3.245	3.276
60	3.329	3.363	3.320	3.328	3.341	3.340	3.346
72	3.329	3.406	3.393	3.382	3.390	3.386	3.399

表 4. 2017/01/09 玉米開花期土壤微生物經培養後的 R_{72} 值、$AWCD_{72}$ 值及 Shannon-Weaver index

(a) R_{72} 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	26	25	27	28	28	28	27
60	28	29	29	29	29	29	29
72	30	30	30	30	30	30	30

(b) $AWCD_{72}$ 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	0.6613	0.6139	0.7554	0.7954	0.6714	0.6874	0.6155
60	0.7394	0.7122	0.8918	0.8616	0.7711	0.7564	0.7094
72	0.8243	0.7465	0.9726	0.9891	0.7817	0.9142	0.7900

(c) Shannon-Weaver index

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	3.203	3.237	3.259	3.280	3.286	3.274	3.289
60	3.306	3.343	3.342	3.352	3.358	3.356	3.353
72	3.392	3.386	3.397	3.406	3.408	3.399	3.404

表 5. 2017/05/04 水稻分蘗期土壤微生物經培養後的 R_{72} 值、$AWCD_{72}$ 值及 Shannon-Weaver index

(a) R_{72} 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	13	14	14	15	11	16	15
60	18	17	21	18	23	20	18
72	21	21	23	23	26	21	24

(b) $AWCD_{72}$ 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	0.2478	0.2130	0.2676	0.2945	0.2428	0.2291	0.2413
60	0.4172	0.3659	0.3774	0.4279	0.4024	0.4140	0.3999
72	0.4977	0.4754	0.5101	0.4960	0.5054	0.5300	0.5588

(c) Shannon-Weaver index

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	2.922	2.830	2.919	3.020	2.992	2.874	2.908
60	3.115	2.948	3.080	3.133	3.149	2.980	3.048
72	3.207	3.043	3.195	3.235	3.223	3.092	3.230

表 6. 2017/06/13 水稻結穗期土壤微生物經培養後的 R_{72} 值、$AWCD_{72}$ 值及 Shannon-Weaver index

(a) R_{72} 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	18	18	21	18	19	24	17
60	20	19	27	23	26	26	22
72	23	25	29	27	29	29	25

(b) $AWCD_{72}$ 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	0.2985	0.2962	0.3796	0.3873	0.4125	0.4019	0.3739
60	0.4341	0.4862	0.5569	0.5229	0.5701	0.5067	0.5766
72	0.5804	0.6433	0.7370	0.6714	0.7035	0.6669	0.6812

(c) Shannon-Weaver index

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	3.068	3.118	3.205	3.061	3.070	3.144	3.130
60	3.141	3.206	3.299	3.185	3.210	3.234	3.239
72	3.223	3.296	3.341	3.269	3.303	3.311	3.304

表 7. 2017/11/16 玉米齊膝期土壤微生物經培養後的 R_{72} 值、$AWCD_{72}$ 值及 Shannon-Weaver index

(a) R_{72} 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	29	27	27	28	24	26	27
60	31	30	30	30	29	28	30
72	31	30	30	31	31	30	30

(b) $AWCD_{72}$ 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	0.6645	0.6885	0.6383	0.7340	0.6372	0.5341	0.5449
60	0.7573	0.8804	0.8012	0.9044	0.8135	0.6219	0.6194
72	0.8993	0.9691	0.8773	0.9506	0.9131	0.7762	0.7005

(c) Shannon-Weaver index

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	3.293	3.272	3.301	3.309	3.233	3.253	3.253
60	3.378	3.366	3.370	3.352	3.326	3.327	3.341
72	3.399	3.396	3.391	3.395	3.386	3.375	3.371

表 8. 2017/12/28 玉米結穗期土壤微生物經培養後的 R_{72} 值、$AWCD_{72}$ 值及 Shannon-Weaver index

(a) R_{72} 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	26	27	26	26	23	25	26
60	29	29	29	29	25	27	29
72	31	30	30	30	30	30	31

(b) $AWCD_{72}$ 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	0.6892	0.6185	0.6269	0.5699	0.6697	0.5011	0.6801
60	0.8300	0.8307	0.8217	0.7251	0.7815	0.6646	0.7800
72	0.9758	0.9525	0.9542	0.8136	0.9043	0.7780	0.8922

(c) Shannon-Weaver index

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	3.267	3.223	3.242	3.226	3.173	3.236	3.219
60	3.344	3.342	3.340	3.329	3.271	3.320	3.343
72	3.391	3.381	3.367	3.369	3.332	3.360	3.394

表 9. 2018/04/19 玉米結穗期土壤微生物經培養後的 R_{72} 值、$AWCD_{72}$ 值及 Shannon-Weaver index

(a) R_{72} 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	23	27	24	24	27	25	27
60	28	29	28	29	30	31	30
72	30	-----	30	30	31	31	31

(b) $AWCD_{72}$ 值

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	0.5314	0.5884	0.5578	0.4987	0.5982	0.5766	0.6505
60	0.7730	0.6910	0.7788	0.7231	0.8376	0.8095	0.8842
72	0.8596	-----	0.8857	0.8650	0.8971	0.8695	0.9445

(c) Shannon-Weaver index

孵育時間 (hr)	Treatment						
	Control	CF	Compost	Compost+1/3N	Compost+2/3N	GM+1/3N	Peat+1/3N
48	3.159	3.290	3.232	3.248	3.269	3.238	3.291
60	3.315	3.344	3.327	3.347	3.364	3.355	3.360
72	3.365	-----	3.360	3.380	3.393	3.391	3.391

本研究至目前為止，已篩選、純化並定序之可培養微生物菌株共 113 株，其 16S rDNA 序列分析鑑定結果如表 10 所示，其中 98 株鑑定結果為細菌，15 株為真菌，尚有部份菌株正陸續定序分析中。以 16S rDAN 之片段序列 (經 3F 引子螢光標記定序)，利用 ClustalX 軟體進行多重序列比對 (Multiple sequence alignment, MSA) 後，再以 Mega 6.0 軟體利用 neighbour-joining (NJ) 演算法進行種系發生之樹狀圖分析，所有菌株以其來源處理為分組作圖，依照各處理

表 10. 土壤微生物經篩選純化後之菌種鑑定結果

Strain	Isolation source	Scientific name	Identity
HIH213_3F	Control	*Lapillicoccus jejuensis*	700/700(100%)
HIH214_3F	Control	*Knoellia locipacati*	692/700(98.8%)
HIH215_3F	Control	*Bacillus velezensis*	700/700(100%)
HIH216_3F	Control	*Bacillus bataviensis*	700/700(100%)
HIH217_3F	Control	*Bacillus aryabhattai*	710/710(100%)
HIH218_3F	Chemical	*Bacillus aryabhattai*	720/720(100%)
HIH219_3F	Chemical	*Bacillus pseudomycoides*	710/710(100%)
HIH220_3F	Chemical	*Bacillus wiedmannii*	730/730(100%)
HIH221_3F	Chemical	*Bacillus anthracis*	730/730(100%)
HIH222_3F	Compost	*Intrasporangium oryzae*	729/730(99.8%)
HIH223_3F	Compost	*Variovorax defluvii*	717/720(99.5%)
HIH224_3F	Compost	*Fictibacillus halophilus*	301/310(97.1%)
HIH225_3F	Compost	*Pseudomonas granadensis*	718/720(99.7%)
HIH226_3F	Compost	*Bacillus pseudomycoides*	720/720(100%)
HIH227_3F	Compost	*Bacillus megaterium*	700/700(100%)
HIH229_3F	Compost	*Pseudomonas granadensis*	707/710(99.5%)
HIH230_3F	Compost + 1/3N	*Humibacillus xanthopallidus*	698/699(99.8%)
HIH231_3F	Compost + 1/3N	*Bacillus cucumis*	698/698(100%)
HIH232_3F	Compost + 1/3N	*Bacillus aryabhattai*	700/700(100%)
HIH233_3F	Compost + 1/3N	*Bacillus aryabhattai*	700/700(100%)
HIH234_3F	Compost + 1/3N	*Bacillus pseudomycoides*	700/700(100%)
HIH235_3F	Compost + 1/3N	*Bacillus velezensis*	650/650(100%)
HIH236_3F	Compost + 1/3N	*Brevundimonas naejangsanensis*	650/650(100%)
HIH237_3F	Compost + 2/3N	*Rhodanobacter spathiphylli*	507/510(99.4%)
HIH240_3F	Compost + 2/3N	*Bacillus megaterium*	532/540(98.5%)
HIH241_3F	Compost + 2/3N	*Bacillus pseudomycoides*	598/600(99.6%)
HIH242_3F	Compost + 2/3N	*Bacillus pseudomycoides*	700/700(100%)
HIH245_3F	Compost + 2/3N	*Bacillus tequilensis*	700/700(100%)
HIH248_3F	GM + 1/3N	*Bacillus mesonae*	599/600(99.8%)
HIH250_3F	GM + 1/3N	*Bacillus pseudomycoides*	699/700(99.8%)
HIH252_3F	Peat + 1/3N	*Nocardia elegans*	700/700(100%)
HIH253_3F	Peat + 1/3N	*Bacillus mesonae*	700/700(100%)
HIH257_3F	Peat + 1/3N	*Bacillus velezensis*	700/700(100%)
HIH258_3F	Peat + 1/3N	*Bacillus pseudomycoides*	700/700(100%)
HIH279_3F	Chemical	*Microbacterium testaceum*	430/430(100%)
HIH280_3F	Chemical	*Pseudomonas geniculata*	687/688(99.8%)
HIH281_3F	Chemical	*Mycobacterium smegmatis*	500/500(100%)

表 10. 土壤微生物經篩選純化後之菌種鑑定結果 (續)

Strain	Isolation source	Scientific name	Identity
HIH282_3F	Chemical	*Rhodococcus qingshengii*	700/700(100%)
HIH283_3F	Chemical	*Pseudomonas hibiscicola*	700/700(100%)
HIH284_3F	Chemical	*Bacillus wiedmannii*	598/600(99.6%)
HIH286_3F	Compost	*Bacillus altitudinis*	649/650(99.8%)
HIH288_3F	Compost	*Bacillus wiedmannii*	700/700(100%)
HIH289_3F	Compost	*Bacillus pseudomycoides*	700/700(100%)
HIH291_3F	Compost + 1/3N	*Nocardia bhagyanarayanae*	700/700(100%)
HIH292_3F	Compost + 1/3N	*Agromyces aurantiacus*	699/699(100%)
HIH293_3F	Compost + 1/3N	*Nocardia niigatensis*	400/400(100%)
HIH294_3F	Compost + 1/3N	*Pseudomonas koreensis*	700/700(100%)
HIH316_3F	Compost	*Bacillus altitudinis*	700/700(100%)
HIH317_3F	Compost + 1/3N	*Leucobacter aridicollis*	700/700(100%)
HIH318_3F	Compost + 1/3N	*Lysobacter niastensis*	697/700(99.5%)
HIH330_3F	Control	*Pseudomonas guariconensis*	711/720(98.8%)
HIH332_3F	Compost + 1/3N	*Cellulosimicrobium funkei*	735/741(99.2%)
HIH339_3F	Compost	*Lysinibacillus xylanilyticus*	527/527(100%)
HIH340_3F	Chemical	*Bacillus altitudinis*	733/733(100%)
HIH272_3F	Control	*Bacillus wiedmannii*	700/700(100%)
HIH273_3F	Control	*Agromyces soli*	700/700(100%)
HIH274_3F	Control	*Rhodococcus qingshengii*	700/700(100%)
HIH275_3F	Control	*Stenotrophomonas maltophilia*	699/700(99.8%)
HIH276_3F	Control	*Rhodococcus qingshengii*	683/700(97.5%)
HIH277_3F	Chemical	*Bacillus pseudomycoides*	700/700(100%)
HIH278_3F	Chemical	*Bacillus pseudomycoides*	698/700(99.7%)
HIH364_NL1	Control	*Penicillium purpurogenum strain*	500/500(100%)
HIH366_NL1	Control	*Fusarium oxysporum strain: JCM 11502*	490/490(100%)
HIH367_NL1	Chemical	*Talaromyces purpureogenus*	495/500(99.0%)
HIH368_NL1	Chemical	*Trichoderma atroviride*	500/500(100%)
HIH369_NL1	Chemical	*Penicillium aculeatum*	497/500(99.4%)
HIH370_NS1	Chemical	*Canine parvovirus isolate*	444/450(99%)
HIH371_NL1	Compost	*Paecilomyces tenuis*	499/500(99.8%)
HIH372_NL1	Compost	*Ochroconis ramosa*	458/459(99.8%)
HIH373_NL1	Compost	*Talaromyces marneffei strain: R44*	499/500(99.8%)
HIH374_NL1	Compost	*Gongronella butleri strain: R21*	600/600(100%)
HIH376_NL1	Compost + 1/3 N	*Talaromyces purpureogenus*	484/501(96.6%)
HIH377_NL1	Compost + 1/3 N	*Acrophialophora levis*	500/500(100%)
HIH381_NS1	GM + 1/3 N	*Canine parvovirus isolate*	340/349(97%)
HIH383_NS1	GM + 1/3 N	*Canine parvovirus isolate*	301/311(97%)
HIH385_NS1	Peat + 1/3 N	*Canine parvovirus isolate*	389/398(98%)
HIH387_3F	Control	*Brevibacillus halotolerans*	700/700(100%)
HIH388_3F	Control	*Bacillus pseudomycoides*	700/700(100%)
HIH389_3F	Control	*Bacillus pseudomycoides*	698/700(99.7%)
HIH390_3F	Control	*Bacillus cibi*	699/700(99.8%)
HIH392_3F	Compost+1/3N	*Bacillus velezensis*	700/700(100%)
HIH393_3F	Compost+1/3N	*Bacillus pseudomycoides*	695/700(99.2%)
HIH398_3F	Chemical	*Streptomyces laculatispora*	697/700(99.5%)
HIH399_3F	Compost	*Rhodococcus qingshengii*	700/700(100%)
HIH400_3F	Compost	*Bacillus marisflavi*	700/700(100%)
HIH401_3F	Compost+1/3N	*Variovorax gossypii*	694/700(99.1%)

表 10. 土壤微生物經篩選純化後之菌種鑑定結果（續）

Strain	Isolation source	Scientific name	Identity
HIH402_3F	Compost+1/3N	*Bacillus pseudomycoides*	697/700(99.5%)
HIH403_3F	Compost+2/3N	*Bacillus pseudomycoides*	700/700(100%)
HIH404_3F	Compost+2/3N	*Bacillus wiedmannii*	700/700(100%)
HIH405_3F	GM+1/3N	*Streptomyces cyslabdanicus*	699/700(99.8%)
HIH406_3F	Compost+1/3N	*Humibacillus xanthopallidus*	698/699(99.8%)
HIH407_3F	Compost+1/3N	*Nocardia niigatensis*	700/700(100%)
HIH408_3F	Peat+1/3N	*Bacillus luciferensis*	699/700(99.8%)
HIH409_3F	GM+1/3N	*Bacillus velezensis*	700/700(100%)
HIH410_3F	Peat+1/3N	*Bacillus luciferensis*	699/700(99.8%)
HIH411_3F	Peat+1/3N	*Paenibacillus hispanicus*	690/700(98.5%)
HIH412_3F	GM+1/3N	*Paenibacillus cineris*	697/699(99.7%)
HIH413_3F	GM+1/3N	*Bacillus velezensis*	700/700(100%)
HIH413_3F	GM+1/3N	*Bacillus siamensis*	700/700(100%)
HIH414_3F	GM+1/3N	*Bacillus cucumis*	698/698(100%)
HIH415_3F	GM+1/3N	*Bacillus megaterium*	700/700(100%)
HIH416_3F	GM+1/3N	*Bacillus altitudinis*	700/700(100%)
HIH417_3F	Compost+2/3N	*Bacillus velezensis*	700/700(100%)
HIH418_3F	Peat+1/3N	*Bacillus velezensis*	700/700(100%)
HIH419_3F	Peat+1/3N	*Micromonospora polyrhachis*	699/700(99.8%)
HIH420_3F	Compost+1/3N	*Microbacterium testaceum*	696/700(99.4%)
HIH421_3F	Peat+1/3N	*Bacillus wiedmannii*	700/700(100%)
HIH422_3F	Peat+1/3N	*Lysinibacillus fusiformis*	699/700(99.8%)
HIH423_3F	GM+1/3N	*Bacillus tequilensis*	700/700(100%)
HIH424_3F	Peat+1/3N	*Bacillus pseudomycoides*	698/700(99.7%)
HIH425_3F	GM+1/3N	*Bacillus aryabhattai*	700/700(100%)
HIH426_3F	Peat+1/3N	*Bacillus velezensis*	700/700(100%)
HIH427_3F	Peat+1/3N	*Bacillus megaterium*	699/700(99.8%)

序列量，選擇 Control、Chemical、Compost 及 Compost +1/3N 等施肥處理作圖。圖 1 顯示對照組處理所篩選出的 11 株定序菌株，大致可分成 7 個菌群；傳統化肥組的 13 株菌株，可區分成 4 個菌群；堆肥處理組的 12 株菌株，可分成 6 個菌群；堆肥處理添加 1/3 化肥組的 14 株菌株，可區分成 9 個菌群，就比例而言，堆肥處理添加 1/3 化肥組的微生物豐富度高於其他組別（結果如圖 1 所示）。

本研究採集 7 種試驗田區土壤總計 4 次，萃取土壤 DNA 後，7 種施肥處理的 DNA 樣品分別以代號 1~28 表示（如表 11 所示），其中 1-14 為玉米作物的土壤樣品，15-28 為水稻作物的土壤樣品，將 DNA 以 GC-4F，5R 引子進行 PCR 擴增，續以變性膠體梯度電泳分離片段，擷取膠體上之條帶進行 UPGMA 分析親緣樹狀圖，結果如圖 2 所示：玉米時期樣品中（圖 2 a），處理間約可分為 4 群，其中對照組（編號 1, 8）差異最大，傳統化肥組（編號 2, 9）、堆肥添加 1/3 化肥組（編號 4, 11）、綠肥添加 1/3 化肥組（編號 6, 13）及泥炭添加 1/3 化肥組（編號 7, 14）的

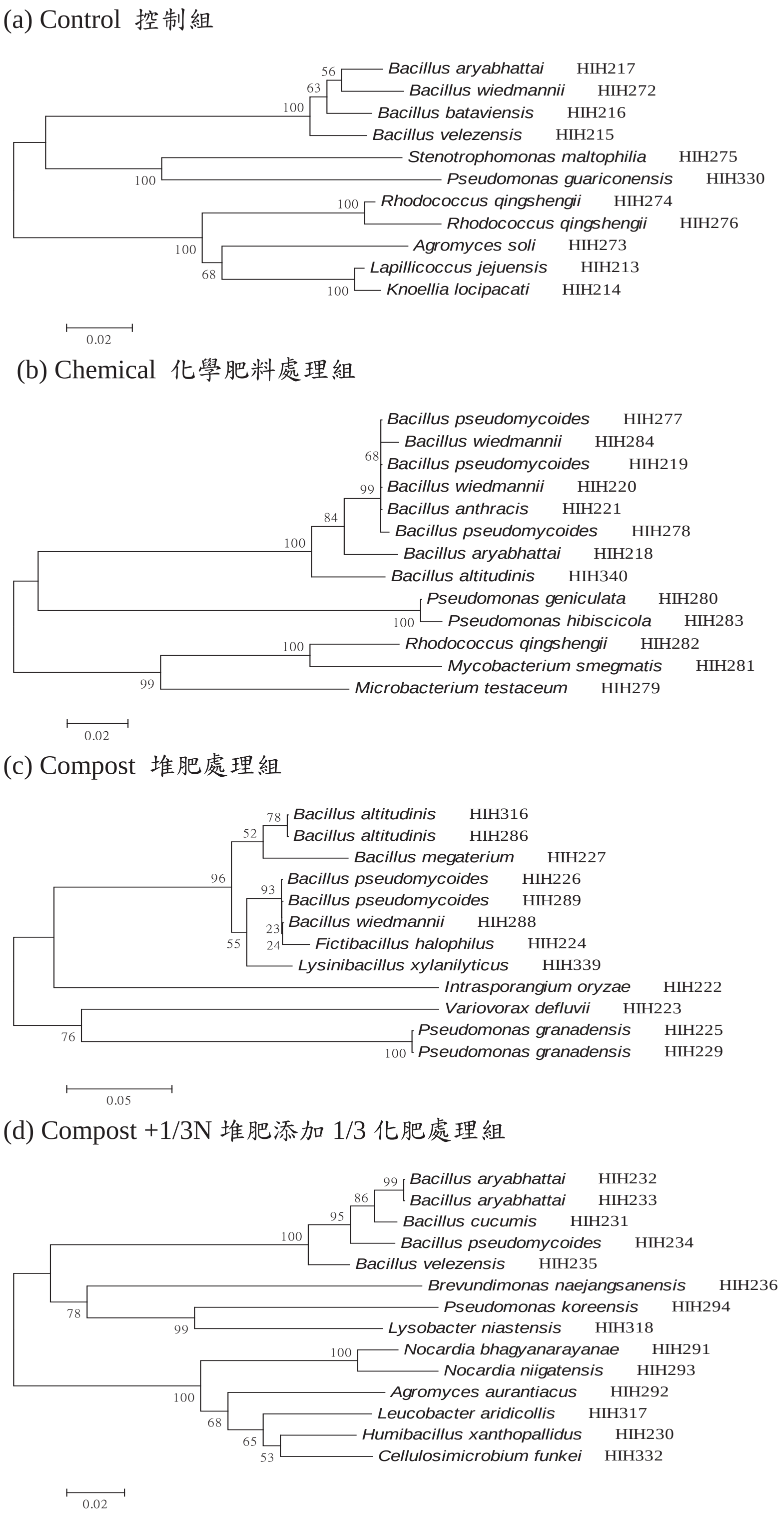
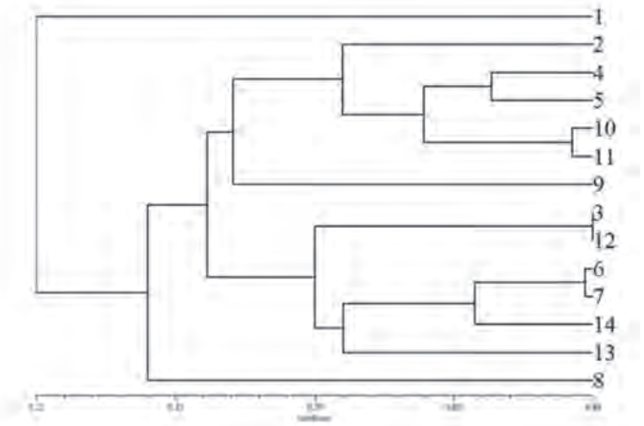


圖 1. 不同處理篩選分離菌株序列之親緣樹

種系發生較為接近。結果推論：不同施肥處理組別土壤中所分析之微生物族群結構，與其基質種類具有密切關係，即堆肥、綠肥、泥炭等不同基質分析所得的微生物族群關係呈現明顯的區集分隔；水稻時期樣品中，處理間約略亦可分為 4 群，

(a) 玉米時期樣品



(b) 水稻時期樣品

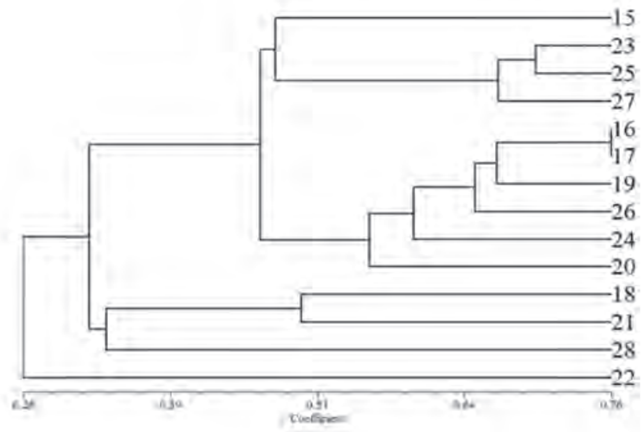


圖 2. 不同施肥處理依據 DGGE 條帶分布以 UPGMA 演算法重建之親緣關係圖。

表 11. 分析樣品其採樣時間及處理之 16S rDNA 代號

施肥處理 Treatment	採樣時間 Sampling Time			
	玉米齊膝期 20161201	玉米開花期 20170109	水稻分蘖期 20170504	水稻結穗期 20170613
Control	1	8	15	22
Chemical	2	9	16	23
Compost	3	10	17	24
Compost+1/3N	4	11	18	25
Compost+2/3N	5	12	19	26
GM+1/3N	6	13	20	27
Peat+1/3N	7	14	21	28

其中對照組 (編號 15, 22) 同樣差異最大，而堆肥組 (編號 17, 24) 、堆肥添加 2/3 化肥組 (編號 19, 26) 及泥炭添加 1/3 化肥組 (編號 21, 28) 圖譜較為接近。水稻田區厭氧環境之群落分佈關聯性較玉米田區不明顯，僅堆肥處理組各土讓樣品之微生物族群分佈較密集。

28 個土壤 DNA 樣品續以第 3 代定序之 PacBio 技術針對 16S rDNA 全長序列進行高通量序列分析，分析序列區間為高變異區 V1~V9，序列長度約為 1500 bps。序列資料經由 SMRTLink 整理，再用 Mothur 軟體去除嵌合體 DNA，相似度 97% 以上的序列歸納為一個 OTUs (Operational Taxonomic Units) 並視為同一物種，再將各 OTUs 與 GreenGenes 菌種資料庫比對獲得各樣品的物種組成資料，另以 OTUs 的數量與種類等資料進行 Alpha diversity 及 Beta diversity 等樣品間的多樣性分析。圖 3 顯示各樣品於 Phylum (門) 層級的 OTUs 組成，以此圖數據為基礎，進行 UPGMA 樹狀圖，結果如圖 4 所示，由結果可觀察到樣品之分佈大致分成 2 個群集 (少數樣品例外)，上半部多數為玉米齊膝期 (1051201) 與玉米開花期 (1060109) 樣品，下半部則多為水稻分蘗期 (1060504) 與水稻結穗期 (1060613) 樣品，顯示試驗田區土壤微生物之群落組成受到作物之影響遠大於施肥處理。圖 5 顯示各樣品於 Order (目) 層級的 OTUs 組成，結果顯示，Desulfuromonadales (除硫單胞菌目，厭氧菌) 在玉米時期所佔比例低於水稻時期；Bacillales 在玉米時期比例高於水稻時期，除了水稻分蘗期，GM+1/3N 處理此菌比例較其他處理高，比對較低層級，

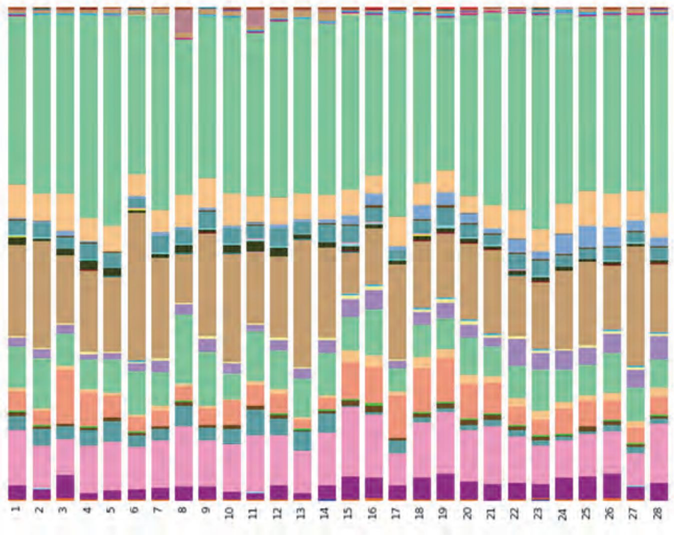


圖 3. 不同施肥處理之土壤樣品經高通量分析的 OTUs 組成結果 (細菌門 Phylum 層級)

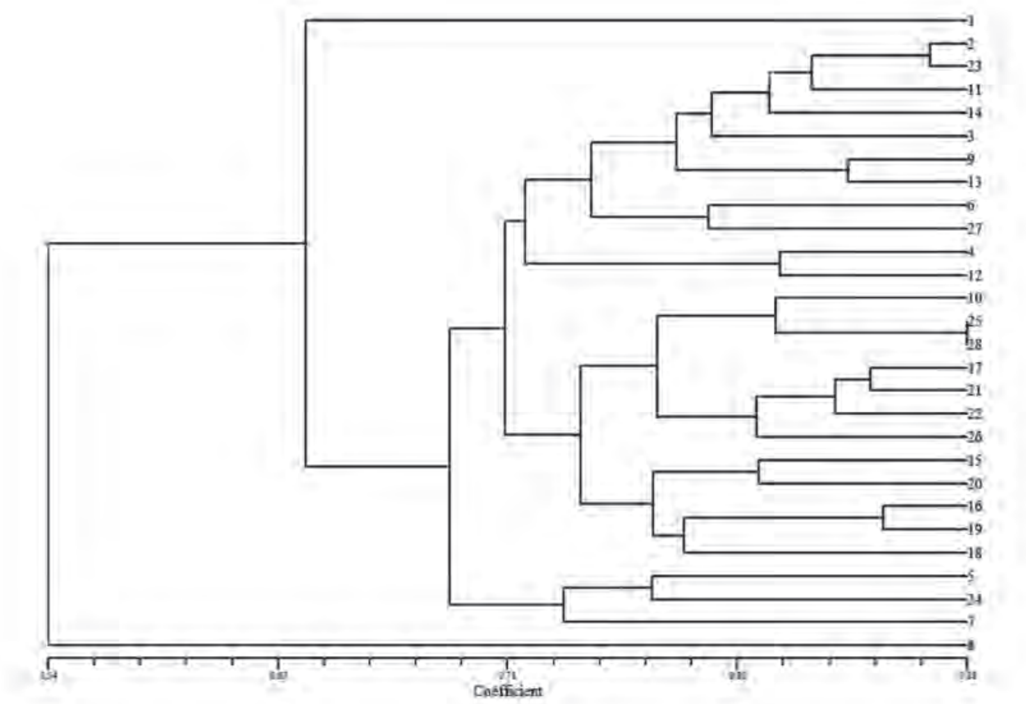


圖 4. 高通量分析的 OTUs 組成於土壤樣品間之親緣關係圖 (細菌門 Phylum 層級)

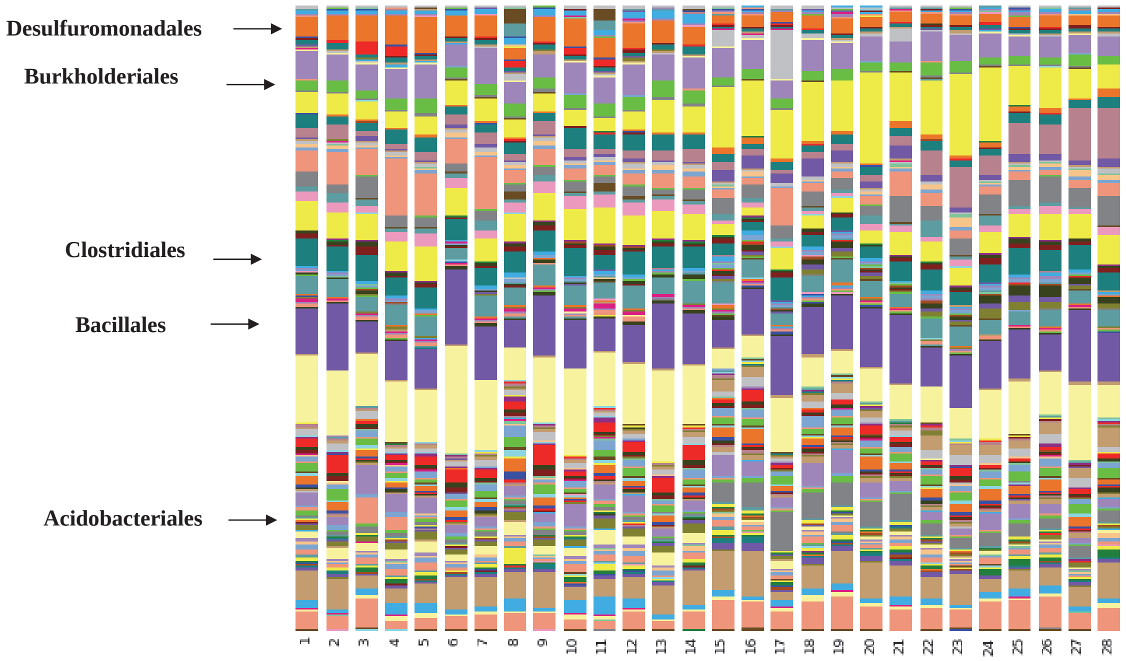


圖 5. 不同施肥處理之土壤樣品經高通量分析的 OTUs 組成結果 (細菌目 Order 層級)

主要為 *Bacillus fumarioli* 及 *flexus*；Bacteroidales (多為厭氧菌)，在玉米時期比例非常低；Acidobacteriales 嗜酸菌在 Compost 的 3 個處理中比例比其他處理低，對照 pH 結果，此 3 處理 pH 較高。

實際測得的 OTUs 數目，加上只有 1-2 條序列的 OTUs 數目形成的參數，經過 Chao 1 演算法估計樣品中應有的 OTUs 數目較能正確表達樣品狀況，結果如表 12 所示，Compost 及 Peat + 1/3N 處理的 Chao 1 值在各個採樣期波動較小，受到採樣時間點的影響較小，而 Control 處理受到採樣時間點的影響較大。OTUs 數據經由 Shannon 演算法演算出之 Shannon 值，此值演算參數中包含 OTU 數目及內含序列條帶數，可視為微生物多樣性之均勻度，如表 13 所示。在玉米期時，各處理間之 Shannon 值差異較大，水稻期各處理差異較小，Compost +1/3N 及 GM +1/3N 處理之 Shannon 值隨採樣期的變動較小，而 Chemical 處理之 Shannon 值隨採樣期變動最大，Compost +2/3N 處理次之。圖 6 為各樣品之主成分分析圖，在圖中距離愈近代表樣品中 OTUs 的種類與數量愈相似，由圖中可知，有 3 個樣品與其他樣品差異較大，分別是 #6 (玉米齊膝期，GM +1/3N 處理)、#10 (玉米開花期，Compost

表 12. 分析樣品經高通量定序分析所得 OTUs 的 Chao 1 值

施肥處理 Treatment	採樣時間 Sampling Time			
	玉米齊膝期 20161201	玉米開花期 20170109	水稻分蘗期 20170504	水稻結穗期 20170613
Control	905	1079	680	790
Chemical	744	693	808	662
Compost	770	786	818	738
Compost+1/3N	900	868	699	686
Compost+2/3N	628	868	744	683
GM+1/3N	616	635	742	660
Peat+1/3N	667	758	721	751

表 13. 分析樣品經高通量定序分析所得 OTUs 的 Shannon 值

施肥處理 Treatment	採樣時間 Sampling Time			
	玉米齊膝期 20161201	玉米開花期 20170109	水稻分蘗期 20170504	水稻結穗期 20170613
Control	7.55	7.66	7.22	7.27
Chemical	7.43	7.50	7.30	6.93
Compost	7.53	7.56	7.30	7.15
Compost+1/3N	7.57	7.76	7.35	7.25
Compost+2/3N	7.50	7.62	7.34	7.19
GM+1/3N	7.09	7.21	7.11	7.08
Peat+1/3N	7.32	7.39	7.32	7.08

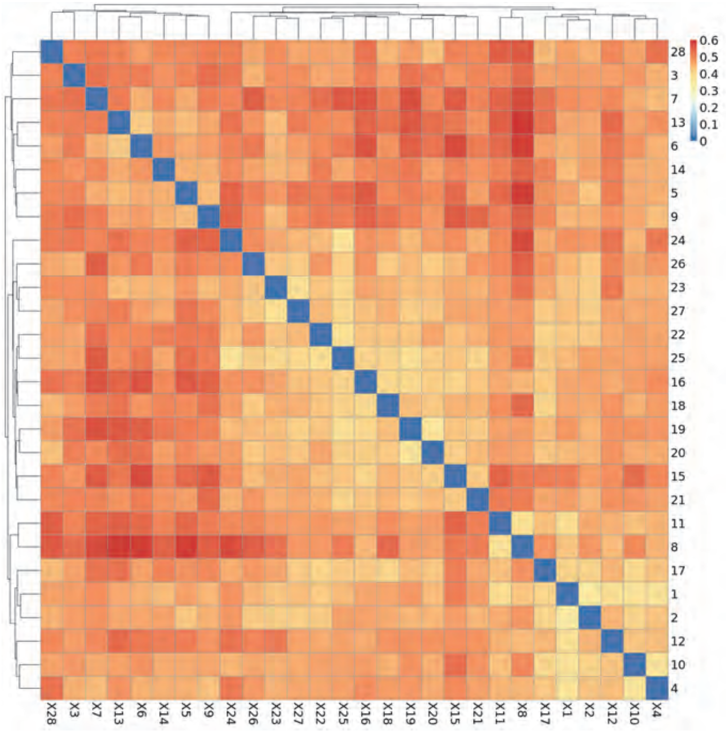


圖 6. 不同施肥處理之土壤樣品經高通量分析未加權的 Beta 多樣性指數

處理) 及 #17 (水稻分蘗期，Compost 處理)，其餘大致以作物種類分成兩大群，與 UPGMA 結果相似，但可看出玉米齊膝期樣品分散程度大於其他樣品，即在玉米齊膝期時各處理微生物相之差異較大。推測玉米作物經由化肥處理組的試驗土壤，由於化學肥料大量施用造成土壤通氣性較堆肥處理差，土壤硬化造就厭氧微生物 (如：Clostridium 等菌屬) 所適合生長之微域環境；而水稻作物由於栽培階段皆處於厭氧環境，於不同採樣點各施肥處理樣品中並無明顯的微生物族群比例差異。另，玉米作物齊膝期所施用化學肥料處理的試驗區，其微生物族群數均高於堆肥處理組；結穗期堆肥處理中的微生物族群數，於化學肥料與堆肥處理間約略相同，推測乃因化學肥料快速分解與淋洗，導致微生物可利用的養分元素快速變動進而影響 R 策略微生物族群分佈。相較於施用化學肥料的處理，堆肥處理組別的厭氧微生物較化學肥料處理組生長優勢，推測原因為有機質肥料其養分隨栽種時間緩慢性釋出，促使 K 策略微生物族群穩定分佈於環境中，本研究將高通量分析於各土壤樣品中所得比例較高的微生物資訊列於表 14 中。圖 6 及圖 7 為樣品所含微生物群落的差異，以加權及未加權之 Beta 多樣性指標表示，紅色表示差異大，加權

後可視為菌種親緣關係和豐度的綜合指標，而未加權只考慮菌種親緣進化關係。如圖所示，未加權 beta 多樣性指標同樣顯示，不同處理之間大致以作物種類進行分群。水稻田區的生物多樣性依作物生長期進行區集，處理間差異不大，而加權後的 beta 指標顯示，不同處理之間的生物多樣性雖依作物種類有分群，但相較於

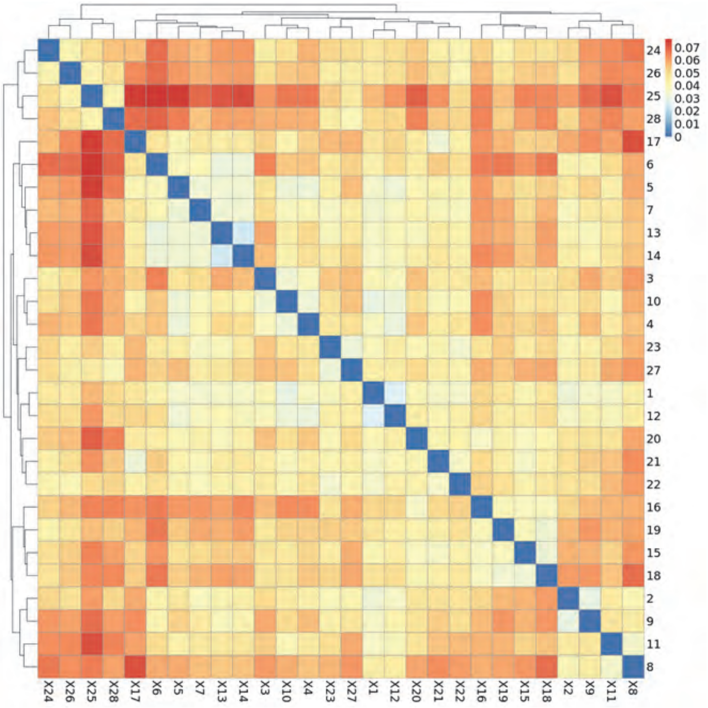


圖 7. 不同施肥處理之土壤樣品經高通量分析加權後的 Beta 多樣性指數

表 14. 土壤樣品經高通量分析所得之 OTUs 之優勢微生物比對分類層級

氧氣需求性 Oxygen requirement	生物層級 Taxonomy level	OTUs 最相似結果 Target
好氧性 (aerobic organism)	科 (family)	Chitinophagaceae
好氧性 (aerobic organism)	科 (family)	Gemmataceae
好氧性 (aerobic organism)	科 (family)	Syntrophobacteraceae
好氧性 (aerobic organism)	種 (species)	Dyella ginsengisoli
好氧性 (aerobic organism)	種 (species)	Massilia timonae
兼性厭氧 (facultative anaerobic organism)	科 (family)	Comamonadaceae
兼性厭氧 (facultative anaerobic organism)	屬 (genus)	Alicyclobacillus
兼性厭氧 (facultative anaerobic organism)	屬 (genus)	Rhodoplanes
兼性厭氧 (facultative anaerobic organism)	種 (species)	Bacillus flexus
兼性厭氧 (facultative anaerobic organism)	種 (species)	Bacillus fumarioli
厭氧性 (anaerobic organism)	科 (family)	Thermogemmatisporaceae
厭氧性 (anaerobic organism)	屬 (genus)	Clostridium
厭氧性 (anaerobic organism)	種 (species)	Clostridium butyricum
厭氧性 (anaerobic organism)	屬 (genus)	Coriobacteriaceae
厭氧性 (anaerobic organism)	屬 (genus)	Desulfosporosinus
厭氧性 (anaerobic organism)	目 (order)	Desulfuromonadales

未加權指數的結果分散，可看出對照組與堆肥添加 1/3 化肥的處理組有較高的生物多樣性。綠肥添加 1/3 化肥與泥炭添加 1/3 化肥的處理組，其生物多樣性相似度較高，與 DGGE 結果類似。圖 8 為樣品經高通量分析後以各樣品之 OTU 數目及種類所作之，OTU heatmap 圖顯示：栽種玉米田區的土壤樣品，其生物多樣性的相對豐度明顯高於栽種水稻的土壤。圖中顯示所有樣品 (X 軸) 中主要 35 屬 (Y 軸) 菌種的豐富度分佈，顏色表示每個 OTU 與該樣品中總 OTU 的百分比，藍色表示低百分比，紅色表示高分分比，玉米土壤樣品之相對豐度明顯高於水稻土壤樣品。

表 15 為各處理歷年產量記錄，產量結果顯示，水稻及玉米產量在不同年度及不同肥料處理有差異，顯示年度氣候影響不同肥料處理之效應顯著。在不施肥的土壤，水稻收穫明顯是最低的，而以化肥及堆肥加化學氮肥的處理下，作物收穫有較高的趨勢。但其收穫量都在誤差範圍內。玉米收穫情況與水稻相似，而以化肥及堆肥加化學氮肥的處理下，作物收穫有較高的趨勢。長期堆肥處理之土壤，在水稻及玉米產量，皆與化肥處理無顯著差異，甚至有些年度水稻產量高過化肥處理。

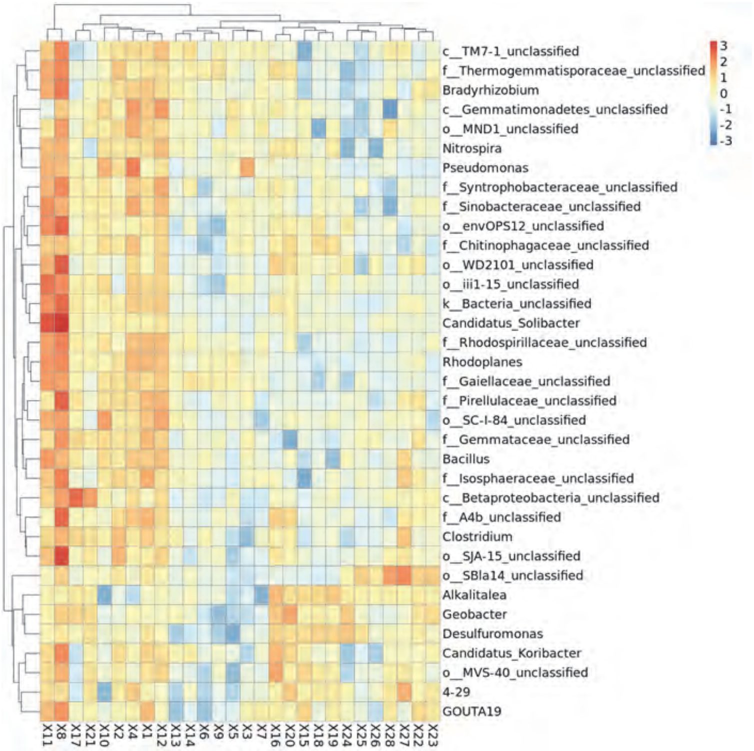


圖 8. 不同施肥處理之土壤樣品經高通量分析後之 OTUs heatmap

表 15. 35 號試驗田歷年水稻及玉米產量 (kg ha^{-1})

(a) 水稻

Treatment	Year								Average
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	
Control	4261c	3492b	4588bc	4433a	4831ab	5057d	6716c	5668b	4881
Chemical	5702a	5721a	5047c	5420a	5334ab	6320abc	8384ba	6288ab	6027
Compost	4490bc	4807a	5584ab	5216a	5107ab	5852bc	7860b	6716a	5704
Compost+1/3N	4823bc	4198a	5813a	4946a	5381ab	6600ab	8812a	6431ab	5875
Compost+2/3N	5023b	5236a	5354abc	5253a	5290ab	6881a	8479ab	6240ab	5970
GM+1/3N	4438bc	5423a	4513c	4866a	4554b	6460abc	8384ab	6240ab	5610
Peat+1/3N	4670bc	4664a	5277abc	5293a	5565a	5757cd	7764b	6050ab	5630

*Values indicated with the same letter within a row are not significantly different (p<0.05) by Duncan’s multiple range test

(b) 玉米

Treatment	Year							Average
	2010	2011	2012	2013	201 mu4	2015	2016	
Control	2357c	2117c	2083c	1568c	3518c	2628c	4154c	2632
Chemical	5348ab	5755a	4154ab	6697a	5765ab	6528ab	7715ab	5995
Compost	4977b	5180ab	4366ab	5341ab	6740a	6146ab	7757ab	5787
Compost+1/3N	5946a	6120a	5426a	6740a	6825a	6528ab	8435a	6574
Compost+2/3N	5296ab	5360ab	5087a	5977ab	6570a	6486ab	8181a	6137
GM+1/3N	5041ab	5146ab	4705ab	5553ab	4875b	7037a	8605a	5852
Peat+1/3N	4438b	4708b	3603bc	5002b	5426ab	5214b	6358b	4964

*Values indicated with the same letter within a row are not significantly different (p<0.05) by Duncan’s multiple range test

結論

1. 有加堆肥組的 3 個處理及 Peat+1/3N 的氮含量及鈣含量皆偏高，銅含量皆偏低，推測與有機質含量有關。
2. 堆肥組 t+1/3N 處理的玉米產量與 Chemical 處理相近，堆肥組長期處理後，產量時有接近或高過化肥組處理。
3. 堆肥組及堆肥組+N 長期處理後的水稻產量與化肥組處理愈趨相近，甚至有所超越。
4. 長期施用化學肥料之土壤，乙炔還原活性較小且變動不劇烈，較不受作物生長期及環境影響，而對照組之乙炔還原活性變動最大。

5. 碳源利用測定結果顯示，化肥組處理的微生物族群相對不穩定。而堆肥組處理的豐富度、穩定度及均勻度都較高。
6. 各時期土壤樣品多源基因體的 16S rDNA 序列分析結果顯示：
   (1) 玉米開花時期樣品物種獨特性最高。
   (2) 試驗田區土壤微生物之群落組成受到作物之影響遠大於施肥處理。
   (3) 微生物均勻度，物種豐富度皆為對照組>堆肥組>化肥組。
   (4) 堆肥加化肥施用可減低單純施用化肥對土壤微生物多樣性造成的影響。
7. 化肥組及堆肥+N 肥的長期處理皆造成土壤酸化。
8. 堆肥處理之土壤，在水稻及玉米產量，皆與化肥處理無顯著差異，甚至有些年度水稻產量高過化肥處理。

引用文獻

1. Brosius, J., M. L. Palmer, P. J. Kennedy, and H. F. Noller. 1978. Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from Escherichia coli. Proc. Natl. Acad. Sci. 75:4801-4805.
2. Edwards, U., T. Rogall, H. Blocker, M. Emde, and E. C. Bottger. 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. Nucleic Acids Res. 17:7843-7853.
3. Hallmann, J., A. Quadt-Hallmann, W. F. Mahaffee, and J. W. Kloepper. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canad. J. Microbiol. 43(10):895-914.
4. Hardy, R.W., R. C. Burns, and R. D. Holsten. 1973. Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. Soil Biol. Biochem. 5:47-81.
5. Koch, B., and H. J. Evans. 1966. Reduction of acetylene to ethylene by soybean root nodules. Plant Physiol. 41:1748-1750.
6. Koeuth, T., L. Versalovic, and J. R. Lupski. 1995. Differential subsequence conservation of interspersed repetitive Streptococcus pneumoniae box elements in diverse bacteria. Genome Res. 5:408-418.
7. Krsek, M. and E. M. H. Wellington. 1999. Comparison of different methods for the isolation and purification of total community DNA from soil. J. Microbiol. Method. 39:1-16.
8. Lodewyck, C., J. Vaugronsveld, F. Porteous, E. R. B. Moore, S. Taghavi, M. Mezgeay, and J. L. Lelie. 2002. Endophytic bacteria and their potential application. Crit. Rev. Plant Sci.

86:583-606.

9. Mano, H. and H. Morisaki. 2008. Endophytic bacteria in the rice plant. Microbes Environ. 23:109-117.
10. Park, M., C. Kim, J. Yang, H. Lee, W. Shin, S. Kim, and T. Sa. 2005. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. Microbiol. Res. 160:127-133.
11. Saito, A., S. Ikeda, H. Ezura, and K. Minamisawa. 2007. Microbial community analysis of the phytosphere using culture-independent methodologies. Microbes Environ. 22:93-105.
12. Shen, F. T., and C. C. Young. 2005. Rapid detection and identification of the metabolically diverse genus Gordonia by 16S rRNA-gene-targeted genus-specific primers. FEMS Microbiol. Lett. 250:221-227.
13. Soeta, N., M. Terashima, M. Gotoh, S. Mori, K. Nishiyama, K. Ishioka, H. Kaneko, and T. Suzutani. 2009. An improved rapid quantitative detection and identification method for a wide range of fungi. J. Med. Microbiol. 58:1037-1044.
14. Sturz, A. V., B. R. Christie, J. Nowak. 2000. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. CRC Crit. Rev. Plant Sci. 19:1-30.
15. Wicklow, D. T., S. Roth, S. T. Deyrup, and J. B. Gloer. 2005. A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. Mycolog. Res. 109:610-618.
16. Lin, S.-Y., Y. C. Liu, A. Hameed, Y. H. Hsu, H. I. Huang, W. A. Lai, and C. C. Young. 2016. *Azospirillum agricola* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from cultivated soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 66:1453-1458.

Analysis of Soil Microbial Diversity and Function in Rice and Maize Fields under Long-term Upland and Lowland Rotational System in Different Fertilization Treatments

Chiu-Chung Young[1,*], Hsin-I Huang[2], Shih-Yao Lin[3], Yu-Weng Lin[4]

Summary

The experimental plot of this research project has been cultivated by the upland and lowland rotational system over 20 years since 1995, and the management strategy of the field fertilization has been carried out in various treatments (fertilizer, compost, green manure, peat and control group) by RCBD design. Soil sample was collected and analysed at different growth stages. The results of carbon source utilization test showed that the number of slow-growing microbial populations in Compost + 2/3N group was higher than that in other treatments, while the number of fast-growing microbial populations was less than other treatments. The microbial activity and diversity were lowest in chemical fertilizers treatment. The full-length sequencing and analysis results of PacBio 16S rDNA showed that the composition of the microorganisms was more affected by the crop than the treatment. The Chao 1 value of the Control group was greatly affected by the sampling time. In Maize, the Shannon values of the treatments

[*] Corresponding author, e-mail: ccyoung@mail.nchu.edu.tw
[1] Professor, Department of Soil and Environmental Sciences, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC. Academician of the Academia Sinica.
[2] Researcher Assistant, Department of Soil and Environmental Science, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
[3] Postdoctoral Researcher, Department of Soil and Environmental Science, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
[4] Associate Researcher, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

were different, and the differences in the treatments in the rice field sample were small. The Shannon values of the Chemical fertilizer groups varied the most with the sampling time, and the Compost + 2/3N group were the second. The Principal Component Analysis shows that the samples are roughly divided into two groups according to the crop type, which is similar to the UPGMA results, but the difference in the microbial diversity of each treatment during the maize tillering period is biger. The weighted beta-diversity showed that the Control and Compost + 1/3N had higher biodiversity. GM +1/3N and Peat + 1/3N had higher similarity. The OTU heatmap shows that the relative abundance of biodiversity in the soil samples in maize is significantly higher than that in the rice. In the rice and maize yields, the Control group had the lowest production, the Chemical fertilizers and Compost +1/3N had a higher production and the yields of the two gropus were close ; the maize production was similar to rice.

Keywords: Rice, Maize, Water and drought rotation, Microbes, Nitrogen fixation activity, Microbial population, Biodiversity, PacBio.

市售溶磷菌肥料產品品質分析

林素禎[1,*]、林姿君[2]、簡宣裕[3]

摘要

高品質的微生物肥料才能在田間提高植物營養元素的吸收及促進植物生長，而政府的品質管控有助於微生物肥料產品在田間獲得更好和更一致的結果，而且還可以從市場上去除品質差的產品，進而提高農民的信心。本文將介紹農業試驗所於 2017 年與 2018 年購買市面上販售的溶磷菌肥料產品，進行溶磷菌有效活菌數、雜菌率、溶磷環、溶磷活性及菌種鑑定，其檢測方法參考農糧署公告的微生物肥料檢驗項目之檢驗方法。由 2017 年檢測結果可知，農業試驗所由市面上購得的 14 個溶磷菌肥料產品只有 5 個皆符合農糧署微生物肥料規定，合格率為 36%。由 2018 年檢測結果可知，16 個市售溶磷菌肥料產品只有8個皆符合農糧署微生物肥料規定，合格率為 50%。上述檢測結果為國內微生物肥料產品上市以來第一次全面性的微生物肥料產品之品質分析，該分析資料可提供農糧署在微生物肥料產品品質管控以及未來微生物肥料法規修改之參考。

關鍵詞：微生物肥料、溶磷菌、品質管控。

前言

農委會農糧署自 2008 年起推動合理化施肥至 2014 年止，經由合理施用化學肥料，每年業已減少化學肥料施用量 10.7%，平均每年約減少 12 萬公噸 (農委會農糧署農業統計年報 91-103 年, http://www.afa.gov.tw)，未來擬利用有機質肥料

* 通訊作者：linmay@tari.gov.tw
1 農委會農業試驗所農業化學組助理研究員。台灣 台中市。
2 農委會農業試驗所農業化學組計畫助理。台灣 台中市。
3 農委會農業試驗所農業化學組前研究員。台灣 台中市。

與微生物肥料之施用，期能再次降低化學肥料之施用量。

微生物肥料 (biofertilizer) 的商業化生產始於 1895 年，在美國和英國開始生產豆科植物用的根瘤固氮菌接種劑，到了 1993 年，根瘤固氮菌接種劑在世界各大洲許多國家都有生產 (Brockwell & Bottomley 1995)。化學肥料與有機質肥料可用肥料成分來標示其肥分之高低，而微生物肥料中除了固氮菌可直接提供作物氮肥外，其他種類的微生物肥料都是藉由增進土壤營養狀況或改良土壤之理化、生物性質，而增加作物產量及品質者，所以微生物肥料的必要檢驗項目與化學肥料及有機質肥料迥然不同。印度在 1996 年提出了溶磷菌與固氮菌 (*Azospirillum*) 的產品標準規範，標準規範中包括菌種名稱、出廠時之菌數、保存期限到期時之菌數、雜菌率、保存期限、pH值、水分含量、定量的活性指標、載體種類、載體大小定量指標 (Ghosh *et al*. 2001)。目前國內的微生物肥料產品登記時需提供菌種名稱、出廠時之目標菌株有效活菌數、活性、大腸桿菌群、雜菌率、保存期限等，但微生物肥料產品規格中無定量的微生物肥料活性與載體大小之規定，且無需提供微生物肥料的肥 (功) 效試驗報告。

Catroux 等人 (2001) 報導指出世界各地 90% 的豆科根瘤菌沒有實際的效果，主要是因產品的品質很差。Herrmann等人 (2013) 報導指出 65 個微生物產品中，只有 37% 的產品中是“純的”微生物菌劑，而其他 63% 被雜菌污染，且 40% 產品中沒有指標微生物。法國根瘤菌產品品管法規最嚴格，每粒種子的菌數需在 10^6 以上，且從出廠到儲架期間皆需無污染，其產品每季使用前皆需經過檢定 (Herrmann *et al*. 2013)。

微生物肥料品質好壞直接影響到施用效果，目前我國微生物肥料產品販售前需先取得農糧署許可證號才能進行販售，而要取得農糧署許可證號，微生物肥料產品必須要先經過檢驗單位檢驗合格。目前微生物肥料產品檢驗之採樣都是取剛製造完成之產品，而微生物肥料產品從出廠到儲架期間，其品質在保存期限內是否還能維持，則有待國內政府機關定期抽樣檢驗才能知道實際狀況。從 2018 年起，農糧署及各縣市政府開始進行微生物肥料產品抽樣與檢驗，希望能在微生物肥料產品品質上進行把關。農業試驗所在 2017 與 2018 兩年間，購買市售溶磷菌肥料產品進行檢驗，本文中將介紹這些溶磷菌肥料產品根據農糧署公告的微生物肥料檢驗項目之檢驗結果。

材料與方法

農業試驗所於2017年與2018年購買市面上販售的溶磷菌肥料產品，進行溶磷菌有效活菌數、雜菌率、溶磷環、溶磷活性等之檢測及菌種鑑定，其檢測方法參考農糧署公告的「肥料檢驗項目之檢驗方法」，溶磷菌有效活菌數及溶磷活性檢驗方法編號為AFS3183-1，雜菌率檢驗方法編號為AFS3802-1，溶磷菌肥料產品之菌種鑑定方法編號為AFS3001-1。另外，目前國內在微生物肥料限制事項中只有大腸桿菌群檢測，2017年農業試驗所委託弘光科技大學食品與化妝品品質檢驗與分析中心檢測市售14個溶磷菌肥料產品之大腸桿菌群、大腸桿菌與沙門氏菌，其檢驗方法參考衛福部公告食品微生物之檢驗方法 (大腸桿菌群之檢驗、大腸桿菌之檢驗及沙門氏桿菌之檢驗)。本文中溶磷菌肥料產品各項的檢測方法簡述於下。

溶磷菌有效活菌數、雜菌率及溶磷環測定

取10 g (或10 mL) 溶磷菌肥料產品放入容積250 mL已滅菌三角瓶中，加入90 mL已滅菌之冷稀釋液中，即為10倍稀釋檢液 (亦稱 10^{-1} 稀釋度檢液)。上述冷稀釋液為生理食鹽水，其配製方法如下：將 8.5 g NaCl 溶解於蒸餾水中，然後稀釋定量成 1 L 經滅菌後備用。將裝有10倍稀釋檢液之三角瓶置於迴轉振盪器上，以30℃，200 rpm 轉速振盪 20 min，使其混合均勻。振盪後，樣品若為粒劑，需於桌面靜置30 s後，再行稀釋。吸取 1 mL 之 10 倍稀釋檢液，移入 9 mL 冷稀釋液之螺旋試管中，振盪均勻，即為 10^{2} 倍稀釋檢液 (亦稱10^{-2}稀釋度檢液) 。依序稀釋至所需稀釋度。本操作需製作不添加溶磷菌肥料產品之空白對照組。取0.1 mL適當稀釋度之菌檢液置於培養基表面中央處 (若預估菌液之活菌數為10^{9} CFU mL^{-1}，則採用10^{5}－10^{7}倍稀釋檢液；依此類推) ，立即取滅菌之玻璃塗抹棒，將菌液均勻塗抹在培養基表面。確認培養基表面無菌液流動後，將培養皿倒置於生長箱內30℃黑暗培養，分別於第3 d、第 7 d、第 14 d及第 28 d，選擇每皿菌落數在25－250之稀釋度計算菌落數，溶磷菌有效活菌數 ＝ 平均菌落數 (CFU 皿$^{-1}$) × 稀釋倍率 / 稀釋菌液量 (g 皿$^{-1}$或 mL皿$^{-1}$)。雜菌係指不屬於微生物肥料目標菌種 (溶磷菌) 之其他微生物，依菌落特徵判定雜菌數，計算微生物肥料雜菌率，雜菌率 ＝ 雜菌數 × (雜菌數 ＋ 溶磷菌數)$^{-1}$ × 100%。溶磷菌菌落周圍可形成透明

環，測量溶磷菌菌落形成透明環之直徑，以每一菌落最長與最短之直徑，取其平均值代表溶磷菌菌落之溶磷環直徑。上述溶磷菌培養基如表1所示，每個直徑 9 cm 培養皿有 13 mL 培養基，平板培養基厚度約 2 mm。

溶磷活性

取 1 g (或 1 mL) 溶磷菌肥料產品加入 100 mL 液體培養基中，在 30℃， 200 rpm 培養箱中振盪培養 4 d，另取1 g (或1 mL) 經滅菌處理之溶磷菌肥料產品為對照組。上述溶磷菌液體培養基之組成不含瓊脂 (agar)，其餘與表1相同。培養後，將培養液置於高速離心機中離心20 min (5℃ 配合 27000 x g 條件)，然後取澄清液，並以0.45 μm濾膜過濾。取定量濾液 (磷約100 μg–900 μg) 移至50 mL量液瓶中，加入10 mL混合試劑，以去離子水稀釋定量，混勻並靜置1 h後，以波長420 nm分光光度計測定磷濃度。磷標準曲線製作方法如下：取0 mL、5 mL、10 mL、15 mL、20 mL及 25 mL 之 50 mg L^{-1}磷標準溶液，分別加入50 mL量液瓶中，並各加入10 mL混合試劑後以去離子水稀釋定量至50 mL，混勻後即為0 mg L^{-1}、5 mg L^{-1}、10 mg L^{-1}、15 mg L^{-1}、20 mg L^{-1}及25 mg L^{-1} 之磷濃度，靜置1 h後，以分光光度計測定，並製作標準曲線。依標準曲線所得之溶磷菌肥料產品磷濃度，計算磷含量。溶磷活性是指單位重量 (體積) 溶磷菌肥料產品之溶磷菌，在單位時間內將難溶性磷分

表 1. 溶磷菌固體培養基 [z]
Table 1. Culture medium for phosphate-solubilizing bacteria

Composition	Concentration (g/L)	Company name
Sucrose	10	Choneye, Taiwan
NH_4NO_3	0.27	Katayama, Japan
KCl	0.2	Katayama, Japan
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1	Katayama, Japan
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.001	Katayama, Japan
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.001	Merck, Germany
Agar	15	Becton, Dickinson and Company，BD, USA
$Ca_3(PO_4)_2$	5	Katayama, Japan

[z] Medium pH was adjusted to 7.0 ± 0.1, and then sterilized at 121℃ for 15 minutes.

解為水溶性磷之量μg (g (mL) × h (d)) $^{-1}$，溶磷活性 ＝ (溶磷菌肥料產品之培養液所含水溶性磷量 (μg 瓶$^{-1}$) – (滅菌的溶磷菌肥料產品之培養液所含水溶性磷量 (μg 瓶$^{-1}$)) / (使用溶磷菌肥料產品量 (mL 瓶$^{-1}$ 或 g 瓶$^{-1}$) × 培養時間 (h或d))。上述混合試劑的配製方法如下：將偏釩酸銨溶液移入1000 mL量液瓶中，快速攪拌，並緩慢加入250 mL濃硝酸 (HNO_3)，冷卻至室溫後，將鉬酸銨溶液倒入量液瓶中，定量至1000 mL。上述鉬酸銨溶液為取25 g鉬酸銨 ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$・$4H_2O$) 溶解於400 mL去離子水中後備用；偏釩酸銨溶液為取1.25 g偏釩酸銨 (NH_4VO_3) 溶解於300 mL 之沸騰去離子水中，冷卻至室溫供用；50 mg L^{-1} 磷標準溶液製作為以KH_2PO_4先於40℃下乾燥，正確稱取0.2197 g後，加入去離子水及25 mL 3.5 M硫酸液，再加去離子水至1000 mL，此時磷濃度即為磷50 mg L^{-1}，亦可採用市售磷標準溶液。上述3.5 M硫酸液製作為緩慢將194 mL濃硫酸，加入500 mL去離子水中，再稀釋為1000 mL，冷卻備用。

溶磷菌肥料產品之菌種鑑定

溶磷菌肥料產品目標溶磷菌菌體之基因組DNA (genomic DNA) 分離：先將低溫保存之目標溶磷菌菌體樣品進行十倍連續稀釋，取1 mL目標溶磷菌菌體樣品與9 mL滅菌水混合，製備10^{-1}–10^{-8}濃度之稀釋液，再取100 μL稀釋液，均勻塗抹於NA培養基中，於30℃下恆溫培養約3–7 d。NB培養基中外加15 g L^{-1}瓊脂後為NA培養基。挑選單一菌落後，至少進行三次劃線分離，確定挑選之菌株為純系培養者。將挑選之純系培養菌株分別接種至5 mL之NB液體培養基中，於30℃配合轉速180 rpm之恆溫振盪條件下，培養4 d。取1.5 mL之上述菌液加入一個經滅菌之2 mL微量離心管中，再將微量離心管置入可控溫高速微量離心機中，於4℃配合10,000 x g之條件下高速離心30 s，將菌體離心至微量離心管之管壁上。倒掉培養液後，再於4℃配合10,000 x g之條件下高速離心30 s，以微量吸取器小心移除殘留之上清液。接著，以萃取試藥套組 (UltraClean Microbial DNA Isolation Kit) 萃取基因組DNA。萃取試藥套組含Microbead solution，Microbead tube，Solution 1，Solution 2，Solution 3，Solution 4，Solution 5，spin filter。上述微量離心管去除上清液後，加入300 μL Microbead solution，將黏附於管壁之菌體沖起並輕微振盪，再將溶液連同菌體移至Microbead tube中。加入50 μL Solution 1 於Microbead tube中。將Microbead

tube置於水浴槽中，以70℃加熱10 min。將Microbead tube置於振盪旋轉盤上，調整轉速至最大刻度後振盪10 min。將Microbead tube置於微量離心機中，並以10,000 x g離心 30 s。以微量吸取器將上清液移至一新的2 mL微量離心管中，加入100 µL Solution 2於微量離心管中，上下搖動5 s，使其與上清液充分混合，並置於4℃條件下5 min。將微量離心管置於微量離心機中，並以10,000 x g離心1 min。以微量吸取器將上清液移至一新的2 mL微量離心管中，加入900 µL Solution 3於微量離心管中，上下搖動 5 s，使其與上清液充分混合。取700 µL上述混合液，並移至含有spin filter之微量離心管，並將微量離心管置於微量離心機中，以10,000 x g離心30 s。將微量離心管中蒐集之濾液倒掉後，再將剩餘混合液700 µL移至含有spin filter 之相同微量離心管，並將微量離心管置於微量離心機中，以10,000 x g離心30 s後，再倒掉濾液。加入300 µL Solution 4於上述之微量離心管的spin filter上，並將微量離心管置於微量離心機中，以10,000 x g離心30 s。將微量離心管中蒐集之濾液倒掉後，再將微量離心管置於微量離心機中，以10,000 x g離心1 min後，再去除殘液。將spin filter移至一新的2 mL微量離心管中，加入50 µL Solution 5於spin filter中央。將含有spin filter之微量離心管置於微量離心機後，以10,000 x g離心30 s，將spin filter取出後，此時微量離心管中的濾液即含有萃取之基因組DNA，將含有基因組DNA之離心管儲存於-20℃冰箱中，以供聚合酶鏈鎖反應 (Polymerase chain reaction，PCR) 增殖16S核醣體DNA (16S rDNA) 用。

溶磷菌菌體 16S 核醣體DNA (16S rDNA) 之 PCR 擴增方法如下：本試驗使用16S rDNA細菌通用引子對11F (5'-GTTTGATCCTGGCTCAG-3'，Kane *et al*. 1993) 及1492R (5'-TACCTTGTTACGACTT-3'，Lin & Stahl. 1995)。將引子對回溶後，以桌上型低轉速離心機離心3 s後，放置冰上備用。吸取0.5 µL 10 mM 11F引子與0.5 µL 10 mM 1492R引子，再加入0.25 µL 2µ µL-1 Taq DNA 聚合酶，2 µL 2.5mM dNTPs，2.5 µL 10X之聚合酶緩衝溶液，及測試菌株之基因組DNA約3 ng，於PCR專用塑膠管中，最後添加去離子水使總體積為25 µL，即可進行聚合酶鏈鎖反應以擴增DNA，其熱循環條件如下：最初變性95℃ 10 min，使基因組DNA完全打開，接著每個循環設定的條件為變性95℃ 50 s，黏接53℃ 60 s，延展72℃ 120 s，變性至延展需進行28個循環反應，最終延展72℃ 10 min，然後將PCR增殖後之16S rDNA 儲存於-20℃冰箱中備用。

DNA膠體電泳分析：以0.5X TAE緩衝液配製0.8%洋菜膠 (agarose)，並以微波爐加熱溶解後於室溫靜置冷卻至40℃－55℃，倒入製膠台凝固，待完成後，將洋菜膠放入電泳槽中，並倒入適量之0.5X TAE緩衝液使其完全覆蓋膠體。吸取5μL增殖後的16S rDNA，並與1μL 6X EZ-Vision DNA染劑 (DNA dye as loading dye) 混合均勻後，隨即注入膠體孔洞中，接著在 16S rDNA樣品一側注入2μL 1Kb DNA分子量標記 (DNA molecular weight marker)，用來比對16S rDNA樣品之分子量。電泳條件為100 V，經 25 min－30 min，完成後將膠體置於UV照光拍攝系統內，觀察結果並拍照記錄。

16S rDNA序列定序與分析：16S rDNA經PCR擴增並以膠體電泳確認後，委由明欣生物科技公司 (Taipei，Taiwan) 以自動核酸定序儀進行DNA定序分析，定序引子對為11F和1492R引子，定序結果以BioEdit軟體進行序列比對與組合，將上述已組合之核醣體DNA序列在EzBioCloud網站中與標準菌株之16S rDNA序列進行比對，所得之序列相似度作為微生物鑑定之判讀依據。另外，亦將廠商在申請溶磷菌肥料產品登記證時所提供的目標菌株16S rDNA序列，在EzBioCloud網站中與標準菌株之16S rDNA序列進行比對，所得之菌種名稱與上述結果比較是否為同一菌種。

結果

2017 年市售溶磷菌肥料產品品質分析

2017年農業試驗所由市面上購得14種溶磷菌肥料產品，其溶磷菌有效活菌數、雜菌率、溶磷環、溶磷酸鈣活性檢測及菌種鑑定如表2所示。依據農糧署2013年4月3日修正之肥料種類品目及規格中規定，市售溶磷菌肥料產品之有效活菌數為固態每公克1×10^7菌落形成數以上；液態每毫升1×10^8菌落形成數以上，肥料登記與市售品查驗之容許差限值為菌落形成數無上限，下限為肥料登記值之1/10，由此可知，市售溶磷菌肥料產品的溶磷菌有效活菌數除了需符合規定的菌落形成數以上，尚須符合下限為肥料登記值之1/10才算合格，目前農糧署網站中並未公告已登記的溶磷菌肥料產品之溶磷菌有效活菌數登記值。由檢驗結果 (表2) 可知，產品編號1、5、12、13與14的溶磷菌有效活菌數未達固態每公克1×10^7菌落形成數以上之規定，判定為不合格之產品，2017年由市面上購得14種溶磷菌肥料產品其溶

磷菌有效活菌數不合格率為36%。產品編號1、5與14在產品登記時溶磷菌有效活菌數所用的檢測方法為農糧署公告方法AFS3183-1，產品編號12與13在產品登記時所用的檢測方法為經濟部標準檢驗局CNS15301-3，其培養基配方中的瓊脂 (Agar) 為12 g L^{-1}，磷酸鈣 ($Ca_3(PO_4)_2$) 為0.3 g L^{-1}，而農糧署公告方法 (AFS3183-1) 培養基配方中的瓊脂為15 g L^{-1}，磷酸鈣 ($Ca_3(PO_4)_2$) 為5 g L^{-1}，其他培養基成分與用量皆相同。培養基配方中的瓊脂含量與磷酸鈣含量是否會影響溶磷菌有效活菌數需要進一步探討。

在雜菌率檢測方面，農糧署之肥料種類品目及規格中規定，溶磷菌肥料固態產品雜菌率不得超過15%，液態產品雜菌率不得超過5%，由檢驗結果 (表2) 可知，14種市售溶磷菌肥料產品中，雜菌率皆符合農糧署規定。

在溶磷環檢測方面，農糧署之肥料種類品目及規格中並無溶磷環之規定。有關定量的活性指標目前只有印度的資料，其規定為：以分光光度法檢測時，菌株應具有最小30%的溶磷能力，以溶磷環檢測時，在厚度至少為3 mm 的培養基上形成最小5 mm溶磷環。若以印度的溶磷環基準 (Ghosh *et al*. 2001) 來看，14種市售溶磷菌肥料產品之溶磷環皆不符合規定，其中，產品編號3、9、10、12與13等5個產品皆沒有產生溶磷環。

在溶磷菌活性檢測方面，農糧署之肥料種類品目及規格中溶磷菌活性無定量指標，只要有活性即可，由檢驗結果 (表2) 可知，產品編號3、7、10與11的溶磷菌活性皆為負值，依農糧署的規定判定為不合格之產品，14種溶磷菌肥料產品其溶磷菌活性不合格率為29%。產品編號3在產品登記時溶磷菌活性檢測方法為調整的磷酸鈣培養基，其培養基配方以農糧署公告方法為基礎，將碳源調整為葡萄糖，另外添加0.1g 酵母抽出物。產品編號7在產品登記時所用的檢測方法為農糧署公告方法。產品編號10與11，在產品登記時檢測方法為經濟部標準檢驗局CNS15301-3，其溶磷菌活性培養基配方中的磷酸鈣 ($Ca_3(PO_4)_2$) 為0.3 g L^{-1}，而農糧署公告方法 (AFS3183-1) 培養基配方中的磷酸鈣 ($Ca_3(PO_4)_2$) 為5 g L^{-1}，其他培養基成分與用量皆相同。培養基配方中的碳源種類、酵母抽出物添加與磷酸鈣含量是否會影響溶磷菌活性需要進一步探討。

在菌種鑑定方面，若將14種溶磷菌肥料產品之目標溶磷菌菌株已組合的16S rDNA序列，以NCBI核酸序列資料庫比對，同一個產品的菌株序列可以得到許多序

列相似度完全相同但不一樣的菌種名稱，在這些序列相似度最高的菌種名稱當中，皆可找到廠商所登記的菌種名稱，但無法判定哪一個可代表該菌株之菌種名稱。因此，再將14種溶磷菌肥料產品之目標溶磷菌菌株已組合的16S rDNA序列，與EzBioCloud網站中標準菌株的16S rDNA進行比對，取其所得序列相似度最高之微生物菌種名稱 (如表2)。另外，亦將廠商在產品上所標示的目標菌株菌種名稱，及產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中標準菌株的16S rDNA進行比對，取其所得序列相似度最高之微生物菌種名稱列於表2。由表2中可知，產品編號1，2，4，5，6，8與14等7個產品，在產品上所標示的目標菌株菌種名稱皆為*Bacillus safensis*，而上述7個產品登記時所提供的16S rDNA序列在EzBioCloud網站中比對後的菌種名稱亦為*Bacillus safensis*，此外，從上述7個市售產品中所分離之目標菌株菌種名稱也是*Bacillus safensis*，由此可判定上述7個市售產品目標菌株菌種名稱皆符合農糧署規定。產品編號3與10這2個產品，在產品上所標示的目標菌株菌種名稱皆為*Bacillus subtilis*，上述2個產品登記時所提供的16S rDNA序列在EzBioCloud網站中比對後的菌種名稱亦為*Bacillus subtilis*，而上述2個市售產品中所分離之目標菌株菌種名稱也是*Bacillus subtilis*，由此可判定上述2個市售產品目標菌株菌種名稱皆符合農糧署規定。產品編號7、12與13這3個產品，在產品上所標示的目標菌株菌種名稱皆為*Bacillus licheniformis*，上述3個產品登記時所提供的16S rDNA序列在EzBioCloud網站中比對後的菌種名稱亦為*Bacillus licheniformis*，而上述3個市售產品中所分離之目標菌株菌種名稱也是*Bacillus licheniformis*，由此可判定上述3個市售產品目標菌株菌種名稱皆符合農糧署規定。產品編號9在產品上所標示的目標菌株菌種名稱為*Bacillus amyloliquefaciens*，但該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中標準菌株進行比對後，序列相似度最高的微生物菌種名稱為*Bacillus subtilis*與*Bacillus siamensis*，而從市售產品中所分離之目標菌株菌種名稱為*Bacillus siamensis*，因該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中比對後的微生物菌種名稱有*Bacillus siamensis*，判定產品編號9菌種名稱符合農糧署規定。產品編號11在產品上所標示的目標菌株菌種名稱為*Bacillus subtilis*，但該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中標準菌株進行比對後，序列相似度最高的微生物菌種名稱為*Bacillus siamensis*，而從市售產品中所分離之目標菌株菌種名稱為*Bacillus*

siamensis，因該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中比對後的微生物菌種名稱為*Bacillus siamensis*，判定產品編號11菌種名稱符合農糧署規定。由上述結果可知，14種溶磷菌肥料產品其溶磷菌目標菌株之菌種鑑定合格率為100%。

目前國內在微生物肥料限制事項中只有大腸桿菌群的測定，尚無大腸桿菌與沙門氏菌之檢測，農業試驗所委託弘光科技大學食品與化妝品品質檢驗與分析中心檢測市售14個產品之大腸桿菌群、大腸桿菌與沙門氏菌，結果顯示，14個溶磷菌肥料產品之大腸桿菌群皆符合農糧署肥料規定,其大腸桿菌群皆小於1×10^3菌落形成數，而大腸桿菌與沙門氏菌檢測結果皆呈現陰性。

由2017年各項檢測結果可知，農業試驗所由市面上購得的14個溶磷菌肥料產品只有5個皆符合農糧署肥料規格，合格率為36%。

2018 年市售溶磷菌肥料產品品質分析

2018年農業試驗所由市面上購得16種溶磷菌肥料產品，其溶磷菌有效活菌數、雜菌率、溶磷環與溶磷酸鈣活性檢測及菌種鑑定如表3所示。由檢驗結果 (表3) 可知，產品編號14的溶磷菌有效活菌數未達固態每公克1×10^7菌落形成數以上之規定，判定為不合格之產品，2018年由市面上購得16種溶磷菌肥料產品其溶磷菌有效活菌數不合格率為6%。產品編號14在產品登記時所用的檢測方法為農糧署公告方法。

在雜菌率檢測方面，由檢驗結果 (表3) 可知，16種市售溶磷菌肥料產品中，產品編號2的雜菌率高達52.9%，超過固態產品雜菌率15%之規定，依農糧署的規定判定為不合格之產品，16種溶磷菌肥料產品其雜菌率不合格率為6%。產品編號2在產品登記時所用的檢測方法為農糧署公告方法。

在溶磷環檢測方面，由檢驗結果 (表3) 可知，16種市售溶磷菌肥料產品之溶磷環只有產品編號8與產品編號11超過5 mm，而產品編號3、7、9、10及12產品之溶磷環為0。

在溶磷菌活性檢測方面，由檢驗結果 (表3) 可知，產品編號9、10、11、12、16、17的溶磷菌活性皆為負值，依農糧署的規定判定為不合格之產品，16種溶磷菌肥料產品其溶磷菌活性不合格率為38%。產品編號9、10、11，在產品登記時檢

表 2. 2017 年市售溶磷菌肥料產品品質分析

Table 2. Commercial product quality analysis of phosphate-solubilizing bacteria in 2017

Sample no.	Plate count [z]	Contamination rate [y] (%)	Phosphate solubilizing halo zone (mm)	Tricalcium phosphate solubilizing activity (μg g^{-1} (mL^{-1}) day^{-1})	Species name of target strain on product label	Species name based on rDNA sequence data when product was registered [x]	Species name of products bought from market in 2017 and identified by rDNA sequence [w]
1	7.3×10^{6} CFU g^{-1}	ND [x]	4.4 ± 0.7	4,962	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
2	3.3×10^{7} CFU g^{-1}	ND	3.6 ± 0.5	3,464	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
3	4.9×10^{8} CFU g^{-1}	ND	0	-328	*Bacillus subtilis*	*Bacillus subtilis*	*Bacillus subtilis*
4	1.0×10^{7} CFU g^{-1}	ND	3.4 ± 0.3	131	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
5	8.2×10^{6} CFU g^{-1}	2.4	3.3 ± 0.3	3,549	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
6	2.0×10^{7} CFU g^{-1}	ND	3.1 ± 0.3	1,251	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
7	1.0×10^{9} CFU mL^{-1}	ND	2.5 ± 0.3	-166	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*
8	1.8×10^{7} CFU g^{-1}	ND	3.5 ± 0.4	1,697	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
9	2.3×10^{9} CFU mL^{-1}	ND	0	365	*Bacillus amyloliquefaciens*	*Bacillus subtilis*, *Bacillus siamensis*	*Bacillus siamensis*
10	4.9×10^{8} CFU mL^{-1}	ND	0	-563	*Bacillus subtillis*	*Bacillus subtillis*	*Bacillus subtillis*
11	7.4×10^{8} CFU mL^{-1}	0.16	4.4 ± 0.6	-459	*Bacillus subtilis*	*Bacillus siamensis*	*Bacillus siamensis*
12	5.4×10^{6} CFU g^{-1}	ND	0	950	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*
13	5.7×10^{6} CFU g^{-1}	1.8	0	1,107	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*
14	1.9×10^{6} CFU g^{-1}	ND	3.3 ± 0.4	3,162	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*

[z] Effective plate count of phosphate solubilizing bacteria: Plate count number for solid product more than 1×10^{7} CFU g^{-1}, and plate count number for liquid product more than 1×10^{8} CFU mL^{-1}. Acceptable deviation limit between registration record and market sampling of product: CFU without upper limit; however, the lowest acceptable limit of CFU was one tenth of the registration record as shown on Category and Specificity of Fertilizers (revised on 2013/4/3)

[y] Contamination rate shall not exceed 15% and 5% for solid and liquid products, respectively

[x] Species name based on rDNA sequence data when product was registered. The 16S rDNA sequence of target strain was identified by comparing with that of standard strain in the website of EzBioCloud. (2019/10/28)

[w] After purification, phosphate solubilizing bacteria were identified by 16S rDNA sequencing. The sequences of 16S rDNA were compared with those of standard strains in the website of EzBioCloud. (2019/10/28)

表 3. 2018 年市售溶磷菌肥料產品品質分析

Table 3. Commercial product quality analysis of phosphate-solubilizing bacteria in 2018

Sample no.	Plate count [z]	Contamination rate [y] (%)	Phosphate solubilizing halo zone (mm)	Tricalcium phosphate solubilizing activity ($\mu g\ g^{-1}$ (mL^{-1}) day^{-1})	Species name of target strain on product label	Species name based on rDNA sequence data when product was registered [x]	Species name of products bought from market in 2018 and identified by rDNA sequence[w]
1 [z]	5.9×10^{7} CFU g^{-1}	ND [w]	4.3 ± 0.7	4739	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
2	1.6×10^{7} CFU g^{-1}	52.9	3.3 ± 1.7	627	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
3	1.5×10^{8} CFU g^{-1}	ND	0	422	*Bacillus subtilis*	*Bacillus subtilis*	*Bacillus subtilis*
4	4.8×10^{7} CFU g^{-1}	ND	3.0 ± 0.4	4176	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
5	2.2×10^{7} CFU g^{-1}	0.9	3.4 ± 0.4	1406	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
6	4.2×10^{7} CFU g^{-1}	ND	4.1 ± 0.8	287	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
7	1.7×10^{9} CFU mL^{-1}	ND	0	760	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*
8	1.9×10^{7} CFU g^{-1}	0.5	5.9 ± 1.1	1774	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
9	2.0×10^{9} CFU mL^{-1}	ND	0	-536	*Bacillus amyloliquefaciens*	*Bacillus subtilis*, *Bacillus siamensis*	*Bacillus velezensis*
10	1.9×10^{8} CFU mL^{-1}	ND	0	-36	*Bacillus subtillis*	*Bacillus subtillis*	*Bacillus velezensis*
11	9.8×10^{7} CFU mL^{-1}	ND	5.5 ± 0.7	-296	*Bacillus subtilis*	*Bacillus siamensis*	*Bacillus velezensis*
12	1.6×10^{7} CFU g^{-1}	ND	0	-1932	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus licheniformis*
14	8.4×10^{6} CFU g^{-1}	ND	3.3 ± 0.4	408	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
15	8.6×10^{7} CFU g^{-1}	0.1	4.4 ± 1.3	2474	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
16	2.2×10^{8} CFU g^{-1}	ND	3.0 ± 0.4	-303	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*
17	2.6×10^{7} CFU g^{-1}	ND	4.5 ± 1.1	-2977	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*	*Bacillus safensis*

[z,y,x,w] Legends same as Table 2.

測方法為經濟部標準檢驗局CNS15301-3，其溶磷菌活性培養基配方中的磷酸鈣 ($Ca_3(PO_4)_2$) 為0.3 g L^{-1}，而農糧署公告方法 (AFS3183-1) 培養基配方中的磷酸鈣 ($Ca_3(PO_4)_2$) 為5 g L^{-1}，其他培養基成分與用量皆相同。產品編號12、16、17在產品登記時所用的檢測方法為農糧署公告方法。培養基配方中的磷酸鈣含量是否會影響溶磷菌活性需要進一步探討。

在菌種鑑定方面，將16種溶磷菌肥料產品之目標溶磷菌菌株已組合的16S rDNA序列與 EzBioCloud 網站中標準菌株的16S rDNA進行比對，取其所得序列相似度最高之微生物菌種名稱 (如表3)。另外，亦將廠商在產品上所標示的目標菌株菌種名稱，及產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中標準菌株的16S rDNA進行比對，取其所得序列相似度最高之微生物菌種名稱列於表3。由表3中可知，產品編號9在產品上所標示的目標菌株菌種名稱為*Bacillus amyloliquefaciens*，但該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中標準菌株進行比對後，序列相似度最高的微生物菌種名稱為*Bacillus subtilis*與*Bacillus siamensis*，而從市售產品中所分離之目標菌株菌種名稱為*Bacillus velezensis*，因該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中比對後的微生物菌種名稱非*Bacillus velezensis*，判定產品編號9菌種名稱不符合農糧署規定。產品編號10在產品上所標示的目標菌株菌種名稱為*Bacillus subtilis*，但該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中標準菌株進行比對後，序列相似度最高的微生物菌種名稱亦為*Bacillus subtilis*，而從市售產品中所分離之目標菌株菌種名稱為*Bacillus velezensis*，因該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中比對後的微生物菌種名稱非*Bacillus velezensis*，判定產品編號10菌種名稱不符合農糧署規定。產品編號11在產品上所標示的目標菌株菌種名稱為*Bacillus subtilis*，但該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中標準菌株進行比對後，序列相似度最高的微生物菌種名稱為*Bacillus siamensis*，而從市售產品中所分離之目標菌株菌種名稱為*Bacillus velezensis*，因該產品在登記時所提供的16S rDNA序列與EzBioCloud網站中比對後的微生物菌種名稱非*Bacillus velezensis*，判定產品編號11菌種名稱不符合農糧署規定。由上述結果可知，16種溶磷菌肥料產品其溶磷菌目標菌株之菌種鑑定不合格率為19%。

由2018年各項檢測結果可知，農業試驗所由市面上購得的16個溶磷菌肥料產

品只有8個皆符合農糧署肥料規格，合格率為50%。

討論

由 2017 年與 2018 年檢測結果可知，農業試驗所在市面上購得的 30 個市售溶磷菌肥料產品只有13 個皆符合農糧署溶磷菌肥料規格，兩年合格率平均為43%，上述檢測結果為國內微生物肥料產品上市以來第一次全面性的微生物肥料產品之品質分析。根據 Catroux 等人 (2001) 所述，全世界商業生產的所有豆科植物接種劑中有 90％ 被認為對生產力沒有任何實際影響，這主要歸因於產品品質差。Herrmann等人 (2013) 的研究指出 65 個微生物產品中，只有 37% 的產品中是純的微生物菌劑，而其他63%被雜菌污染，且40%產品中沒有指標微生物。這些結果凸顯出微生物肥料產品需要更好的品質控制系統，以確保有效的產品能夠到達最終用戶。品質保證和品質控制的實施，不僅有助於微生物肥料產品在田間獲得更好和更一致的結果，而且還可以從市場上去除品質差的產品，進而提高農民的信心。品質保證是微生物肥料製造商在生產過程中，每個階段都必須達到設定的標準，才能進入下一個生產步驟，否則，生產中止。品質控制則由獨立的實驗室在微生物肥料產品出售前，檢測其品質是否符合標準，藉以控制準備出售的微生物肥料產品 (Stephens & Rask 2000)。對於微生物肥料產品的品質控制，各國法規規定不一，目前對於根瘤菌接種劑以法國擁有最嚴格的標準：(1) 所有根瘤菌接種劑應證明對環境無害，(2) 根瘤菌接種劑應由純培養物製成和無菌載體，(3) 每粒種子在播種時其活菌數至少需 10^6 個活的細胞，(4) 從出廠到儲架期間皆需無污染，(5) 產品每季使用前皆需經過獨立的實驗室檢定合格 (Herrmann *et al*. 2013)。

從 2018 年起，農糧署及各縣市政府開始進行微生物肥料產品抽樣，並送樣至農業試驗所進行檢驗，希望能在微生物肥料產品品質上進行控管，2018 年農糧署規定的檢測項目只有微生物肥料的活菌數，檢驗結果顯示：在 10 個送樣產品中，有 3 個產品未達農糧署微生物肥料活菌數規格，不合格率為 30%。國內目前的微生物肥料產品無微生物肥料活性的定量指標之規定，且無需微生物肥料的肥(功) 效試驗報告，這些微生物肥料產品是否可提高作物對營養元素之吸收，尚待進一步測試。國內目前農民使用微生物肥料的比率不高，主要是由於微生物肥料

肥 (功) 效不穩定，而造成肥 (功) 效差的原因為微生物肥料產品菌體肥 (功) 效差或載體配方不合適。微生物肥料肥 (功) 效的提升，可藉由廠商或政府的田間(或盆栽)肥 (功) 效評估試驗來把關。

有關微生物肥料載體配方之研究，為了維持微生物肥料肥 (功) 效，載體配方應結合以下幾個特點：(1) 載體配方應為微生物提供保護環境 (例如：提供菌體養分，適宜的pH值及含水量等)，使微生物有最佳生長，並在儲存期間、運輸過程以及加入土壤後，防止其菌數減少。(2) 產品配方應該易於使用，對環境友善，並且具有成本效益，且製作材料易於取得 (Bashan 1998；Hungria *et al.* 2005)。有關微生物肥料載體配方之研究，尚待研發人員積極投入開發。

引用文獻

1. Bashan, Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnology Advances 16(4):729–770.
2. Brockwell, J. and P. J. Bottomley. 1995. Recent advances in inoculant technology and prospects for the future. Soil Biology and Biochemistry. 27(4-5):683–697.
3. Catroux, G., A. Hartmann, and C. Revellin. 2001. Trends in rhizobial inoculant production and use. Plant and Soil 230(1):21–30.
4. Ghosh T. K., R. P. Singh, Duhan Joginder, and D. S. Yadav. 2001. A review on quality control of biofertilizer in India. Fertilizer Marketing News 31:1-9.
5. Herrmann, L. and D. Lesueur. 2013 Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. Applied Microbiology and Biotechnology 97(20):8859–8873.
6. Hungria, M., M. F. Loureiro, I. C. Mendes, R. J. Campo, P. H. Graham. 2005. Inoculant preparation, production and application. P. 223–253. *in*: D. Werner and W. E. Newton (eds) Nitrogen fixation in agriculture, forestry, ecology, and the environment. 342 pp.
7. Kane, M. D., L. K. Poulsen, and D. A. Stahl. 1993. Monitoring the enrichment and isolation of sulfate-reducing bacteria by using oligonucleotide hybridization probes designed from environmentally derived 16S rRNA sequences. Applied and environmental microbiology 59(3):682–686.
8. Lin, C. and D. A. Stahl. 1995. Taxon-specific probes for the cellulolytic genus fibrobacter reveal abundant and novel equine-associated populations. Applied and Environmental Microbiology 61(4):1348–1351.
9. Stephens, J. H. G. and H. M. Rask. 2000. Inoculant production and formulation. Field Crops Research 65(2-3):249–258.

Quality Analysis of Commercial Phosphate-solubilizing Bio-fertilizer Products

Su-Chen Lin[1,*], Zi-Jun Lin [2], and Shiuan-Yuh Chien [3]

Summary

Only bio-fertilizers with good quality can assure its promotion in plant nutrients absorption and growth in the field, and the supervision of product quality from government side could play another key role not only in helping bio-fertilizers provide a better and consistent results in the field, but also in eliminating products with bad quality. Both efforts could enhance the farmers' confidence in these microbial products. In this report, all of the analysis results of commercial phosphate-solubilizing bio-fertilizers, purchased from markets from 2017 to 2018 were documented. The scope of product analysis included total plate count of viable microbes, contamination rate, phosphate-solubilizing zone, phosphate-solubilizing activity, target species identification. All of methodologies followed the publications by Agriculture and Food Agency (AFA). In 2017, only 5 among 14 commercial products (36%) met the requirements by AFA . In 2018, only 8 among 16 commercial products (50%) met the requirements by AFA. This is the first product quality report about commercial phosphate-solubilizing bio-fertilizers. This result will be submitted to AFA and referred to revise the management law of bio-fertilizers in the future.

Keywords: Bio-fertilizer, Phosphate-solubilizing bacteria, Quality supervision.

---

* Corresponding author, e-mail: linmay@tari.gov.tw

1 Assistant Researcher, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

2 Research Assistant, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute , Taichung, Taiwan, ROC.

3 Former Researcher, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

溶磷菌與高磷需求作物之相容性研究

張鈞喆 [1]、賴威安 [2]、楊秋忠 [3]、沈佛亭 [4,*]

摘要

本研究針對菌株是否可在根表面拓殖特性進行探討，篩選具移動性、生成 IAA 與 ACC 脫氨酶的溶磷菌株，於甘藍菜、番茄、菠菜種子進行生物分析及三角瓶栽試驗，瞭解菌株對種子發芽與幼苗生長的影響，並以螢光原位雜合與純系分離株分子指紋分析確認接種菌株在植株根系的分布評估相容性，另於溫室中以盆栽試驗探討接種菌株對三種作物生長的影響並評估菌株在微棲地環境中的適應性。測試溶磷菌配合 3 種作物的種子生物分析與三角瓶栽試驗，結果顯示其中 2 株菌可提高瓶栽甘藍菜地上部乾重、4 株菌可提高瓶栽番茄地上部乾重、3 株菌可提高瓶栽菠菜地上部乾重，利用純系分離株 BOX-PCR 分子指紋分析與 16S rRNA 基因螢光探針 EUB338 之雜合技術均顯示菌株於根系生長 30 天後仍可存活於根表面。經相容性測試篩選出之菌株進行盆栽試驗，顯示可提高盆栽甘藍菜生質量具適應性之菌種為 Bacillus marisflavi 與 Pseudoarthrobacter niigatensis；可提高盆栽番茄生質量具適應性之菌種為 Brevundimonas albigilva 與 Gordonia hongkongensis；可提高盆栽菠菜生質量具適應性之菌種為 Bacillus xiamenensis 與 Paraburkholderia sacchari。

關鍵詞：微生物肥料、溶磷菌、甘藍、番茄、菠菜、基因螢光探針。

前言

微生物肥料於 2010 年納入肥料管理法規範後，迄今市面商品二十餘支，為可配合化學肥料與有機質肥料使用的新興農業資材。然而因微生物肥料內含活性菌

* 通訊作者：ftshen@dragon.nchu.edu.tw
[1] 國立中興大學土壤環境科學系研究助理。台灣 台中市。
[2] 國立中興大學土壤環境科學系博士後研究員。台灣 台中市。
[3] 中央研究院院士、國立中興大學土壤環境科學系教授。台灣 台中市。
[4] 國立中興大學土壤環境科學系副教授。台灣 台中市。

種，需依賴其固氮、溶磷、溶鉀活性的表現方能發揮效果，不同於添加化學肥料或有機質肥料成分提供作物生長所需養分，菌株能否適應作物根圈或植體微棲地環境並穩定存在，將直接影響微生物肥料施用的效果，其中菌株與作物的相容性更是微生物接種能否成功的關鍵，但少有研究探討。土壤有益微生物的特性研究依賴在實驗室培養條件下進行的分析，雖然透過培養可評估其促進作物生長的潛力，但往往因現地環境與實驗室條件不同，導致在實驗室測試功能優良的微生物進入盆栽或田間後表現不如預期，其中了解微生物接種後在作物根表面的拓殖與內生特性是重要關鍵。

材料與方法

一、供試溶磷菌株篩選

自實驗室溶磷菌種庫中的分離株，經測定溶磷 (Nautiyal et al., 2000)， 挑選活性較佳的菌株，進一步鑑定(Willems and Collins, 1993)，並且測定菌株的移動性、IAA 與 ACC 脫氨酶生成能力，挑選表現較佳的菌株進行後續試驗。

(一) 將供試菌株接種於含不同濃度洋菜的肉汁平板培養基，觀察菌落擴散樣式得知菌株是否具有移動性(Rashid and Kornberg, 2000)。

(二) 將供試菌株接種於含色胺酸的肉汁培養基，待培養後利用比色法測定培養液中的 IAA 含量(Gordon and Weber, 1951; Patten and Glick, 2002)，篩選可生成 IAA 的溶磷菌。

(三) 另以 ACC 作為培養基中的氮源，接種菌株培養後利用比色法測定培養液中的 α-酮丁酸含量得知菌株的 ACC 脫氨酶活性(Penrose and Glick, 2003)。

二、螢光原位雜合與純系分離株分子指紋分析技術建立

為追蹤接種菌株是否存在於根圈或植體表面，將建立螢光原位雜合與純系分離株分子指紋分析技術。

(一) 針對目標菌株設計探針並以螢光標定後，考慮探針的偵測專一性與靈敏度進行雜合反應條件最佳化。

(二) 建立各菌株的分子指紋，以 BOX-PCR 針對細菌短重複片段進行增殖反應，再利用電泳分析得知不同菌株的基因型圖譜(Koeuth et al., 1995)。

三、種子生物分析與三角瓶栽試驗

於生長箱中分別以種子生物分析與三角瓶栽試驗評估菌株與作物的相容性。

(一) 先將已表面消毒的種子置於含菌液的濾紙上，待種子發芽 3-7 d 後測定發芽率、胚根與胚莖長 (Lai et al., 2008)，篩選可促進種子發芽的菌株進行後續試驗。

(二) 瓶栽試驗中，將接菌後的種子置於盛裝蛭石並添加植物養液 (Hoagland and Arnon, 1950) 的三角瓶中，於植物生長箱中培養，光照時間每日 13 小時，待幼苗生長後分別於第 10、20 與 30 d 進行生育性狀調查，另進行根部樣品的螢光原位雜合 (Assumus et al., 1995) 與純系分離株分子指紋分析，解析菌株在根圈或作物表面的拓殖特性。

四、溫室盆栽試驗

為了解菌株接種至複雜環境中對作物生長的影響與其在微棲地的適應性，於溫室中進行盆栽試驗，設計不同處理進行比較。本試驗供試土壤來源為彰化福興鄉玉米田土壤，土壤性質如表 1 所示。

(一) 處理包括不施肥的對照組、全量化肥組、半量化肥組、半量化肥 + 磷酸三鈣 + 溶磷菌組，並以五重複進行。將接菌後的種子置於含土壤的盆栽中，待幼苗生長後每兩週進行植株生育性狀調查，並於採收時進行生質量分析。

(二) 進行根圈、根表面菌體懸浮液的製備 (Matthyse and McMahan, 1998)，以螢光原位雜合與純系分離株分子指紋分析，解析菌株在根圈與根系表面的拓殖特性評估其在微棲地環境中的適應性。

表 1. 試驗土壤性質

pH	EC μS/cm	O.M %	N	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn
			-----	-----	-----	-----	mg kg^{-1}	-----	-----	-----	-----
7.4	497	3.41	1604.80	5636.77	8.24	400.29	96.64	548.70	246.57	8.31	3.28

結果與討論

一、供試溶磷菌株篩選

本研究測試菌株之移動能力 IAA 產生以及 ACC deaminase 活性功能以作為研究菌株根拓殖作用能力的參考與根據，表 2 為各菌株之移動能力、IAA 產生以及 ACC deaminase 活性的測試結果。

表 2. 菌株功能性比較

Strain	Motility			Production of	
	Swimming	Swarming	Twitching	IAA (μg ml^{-1})	ACC deaminase (*n*mol –ketobutyrate ml^{-1})
Arthrobacter sp. OTO3C	-	-	-	58.78	1.80
Arthrobacter sp. OTO3D	-	-	-	28.40	9.27
Arthrobacter sp. OTO3E	-	-	-	35.55	6.25
Arthrobacter sp. OTO3G	-	-	-	49.75	0.00
Aureimonas sp. S-NaCl-1	-	-	-	15.89	0.00
Aureimonas sp. S-NaCl-3	-	-	-	14.44	0.00
Aureimonas sp. S-NB-5	-	-	-	0.00	4.41
Aureimonas sp. S-NB-8	-	-	-	13.00	0.00
Bacillus sp. K-NaCl-7	+	-	-	5.67	0.00
Bacillus sp. OTPB4	+	+	-	0.00	21.16
Bacillus sp. R-NB-5	-	-	-	36.33	19.92
Brevundimonas sp. S-NB-2	-	-	-	0.00	0.00
Burkholderia sp. OTSL7	-	-	-	0.00	0.00
Cellulomonas sp. K-NaCl-5	+	-	-	0.00	28.87
Cupriavidus sp. OTPB9	-	-	-	0.00	178.45
Ensifer sp. OTPB10	-	+	+	0.00	203.49
Gordonia sp. W-NaCl-3	-	-	-	0.00	0.00
Kluyvera sp. CTC-C5	+	+	-	70.78	123.04
Microbacterium sp. NAI1	-	-	-	0.00	11.58
Pantoea sp. CTC-P2	+	+	-	64.67	0.00
Pantoea sp. MYEO12	+	+	-	64.22	70.55
Pseudomonas sp. CTC-C2	+	-	-	25.11	7.48
Pseudomonas sp. CTC-C3	+	+	-	51.89	0.00
Pseudomonas sp. CTC-P1	+	+	-	32.22	39.74
Pseudomonas sp. MYEO14	+	-	-	12.00	66.18
Pseudomonas sp. MYET2	+	-	-	12.00	63.94
Pseudomonas sp. OTA1-2I	-	-	-	14.00	0.00
Ralstonia sp. OTSL6	+	-	-	0.00	119.57
Rhizobium sp. OTA1-2A	-	-	-	54.52	0.00
Rhizobium sp. R-NB-1(a)	-	-	+	84.78	8.94
Sinomonas sp. R-NB-11	-	-	-	169.56	0.00
Sinomonas sp. R-NB-15	-	-	-	172.00	0.00
Sphingopyxis sp. W-NaCl-5	-	-	-	0.89	20.71

+：具移動性　-：無移動性

二、種子生物分析

本研究依種子發芽生物分析結果與甘藍、番茄及菠菜相容性較好的溶磷菌株及功能性比較結果如表 3，結果顯示溶磷菌株對於作物可能具有物種選擇性，並非皆具有促進各種作物種子發芽生長之功效，有部分的專一性，其中移動能力、生產 IAA 及 ACC 之能力可能也並非唯一促進生長之因素。

三、三角瓶栽試驗

(一) 甘藍菜瓶栽試驗

將經種子發芽生物分析測試其對於甘藍菜生長促進具有潛力之 10 株溶磷菌菌株 OT03C、S-NB-8、S-NaCl-3、MYEO12、OTA1-2I、NAI-3、W-NaCl-5、K-NaCl-7、OT03D、OT03G 以瓶栽試驗測試其接種於甘藍菜種子對於植物生長的影響，經過 30 d 的生長地上部乾重經統計結果如圖 1 所示。結果顯示接種 OT03C 和 K-NaCl-7 對於甘藍菜的地上部乾重有明顯促進的效果，與未接種的處理相比較，分別提高了 65.4% 和 62.1%。其餘菌株對於甘藍菜地上部的乾重則沒有顯著促進的效果，但亦無明顯抑制生長的作用。

表 3. 種子發芽生物分析結果與三種作物相容性較佳之溶磷菌株及其功能性比較

Strain	Motility	Production of		Seed bioassay		
		IAA (μg ml^{-1})	ACC deaminase (*n*mol – ketobutyrate ml^{-1})	Cabbage	Tomato	Spinach
Arthrobacter sp. OTO3C	-	58.78	1.80	○	○	
Arthrobacter sp. OTO3E	-	35.55	6.25		○	
Arthrobacter sp. OTO3G	-	49.75	0.00	○	○	○
Aureimonas sp. S-NaCl-3	-	14.44	0.00	○		○
Aureimonas sp. S-NB-8	-	13.00	0.00	○		
Bacillus sp. K-NaCl-7	+	5.67	0.00	○		
Bacillus sp. OTPB4	+	0.00	21.16		○	○
Brevundimonas sp. S-NB-2	-	0.00	0.00	○	○	
Cellulomonas sp. K-NaCl-5	+	0.00	28.87			○
Gordonia sp. W-NaCl-3	-	0.00	0.00		○	○
Pantoea sp. MYEO-12	+	64.22	70.55	○		
Pseudomonas sp. OTA1-2I	-	14.00	0.00	○		○
Rhizobium sp. OTA1-2A	-	54.52	0.00			○
Sinomonas sp. R-NB-11	-	169.56	0.00	○	○	
Sphingopyxis sp. W-NaCl-5	-	0.89	20.71	○	○	○

Motility：+ 表示具有Swimming, Swarming or Twitching能力；- 表示無移動能力；Seed bioassay：○ 表具促進生長功效

將塗抹於 NA 培養基的根圈細菌懸浮液生長的菌落以 BOX-PCR 的反應產物，以電泳分析確認其是否與原接種菌株為同一菌株，結果如圖 2 所示，顯示所測試之根圈細菌與接種的菌株為同一菌，其中菌株的螢光原位雜合分析如圖 3 所示。

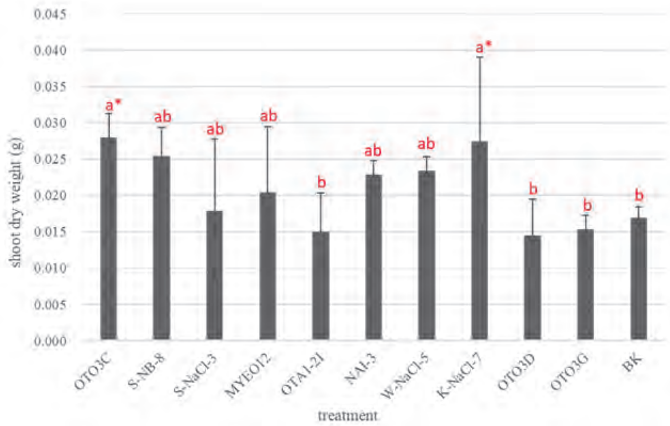


圖 1. 瓶栽試驗接種溶磷菌對於甘藍菜 30 d 生長地上部乾重

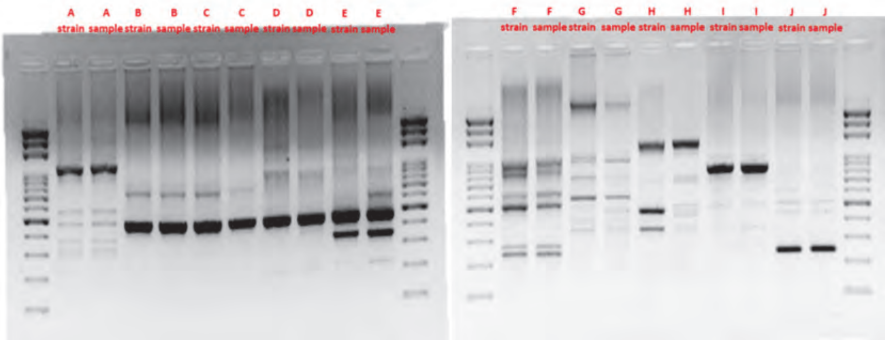


圖 2. 甘藍菜瓶栽培養 30 d 根中回篩菌株的 BOX-PCR 指紋圖譜

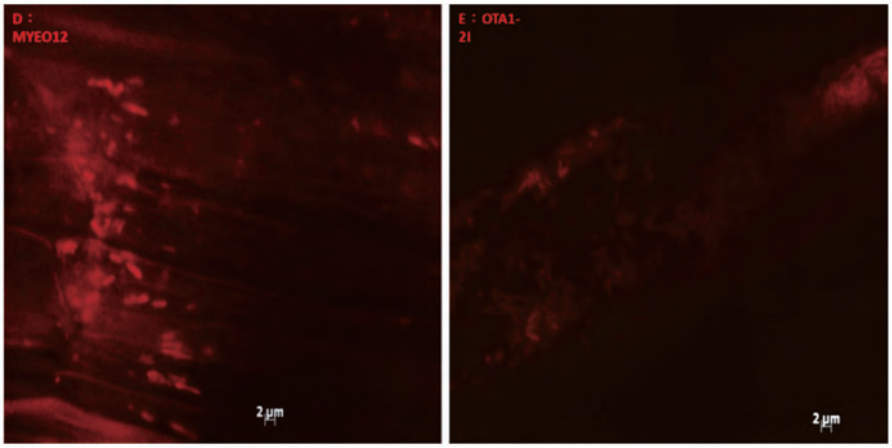


圖 3. 甘藍菜瓶栽培養 30 d 根中回篩菌株的螢光原位雜合分析

(二) 番茄瓶栽試驗

將經種子發芽生物分析測試其對於番茄生長促進具有潛力之 10 株溶磷菌菌株 S-NB-2、R-NB-5、R-NB-11、OT03C、OT03E、OT03G、W-NaCl-3、W-NaCl-5、OTPB4、OTPB9 以瓶栽試驗測試其接種於番茄種子對於植物生長的影響，經過 30 d 的生長經統計結果如圖 4 所示。結果顯示接種 S-NB-2、W-NaCl-3、R-NB-5 及 OT03C 對於番茄地上部乾重有明顯促進的效果，與未接種的處理相比較，分別提高了 28.4 %、13.5 %、18.4 %及 31.2 %。其餘菌株對於番茄地上部的乾重則沒有顯著促進的效果甚至產生抑制生長的作用。

將塗抹於 NA 培養基的根圈細菌懸浮液生長的菌落以 BOX-PCR 的反應產物，以電泳分析確認其是否與原接種菌株為同一菌株，結果如圖 5 所示，表示所測試之根圈細菌與接種的菌株為同一個菌株，其中菌株的螢光原位雜合分析如圖 6 所示。

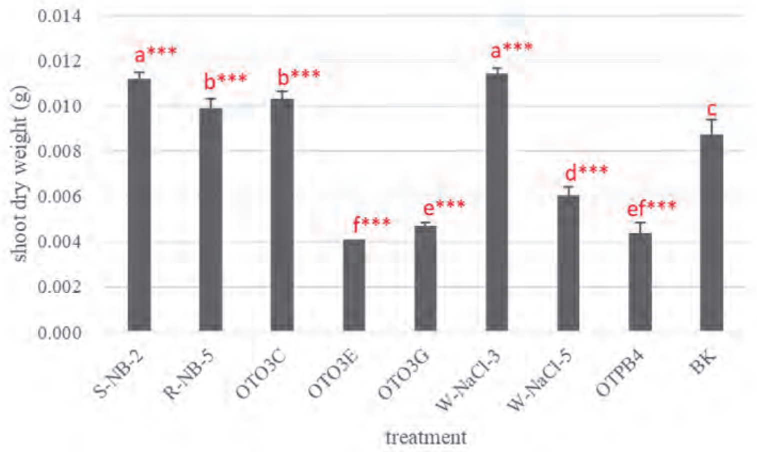


圖 4. 瓶栽試驗接種溶磷菌對於番茄 30 d 生長地上部乾重

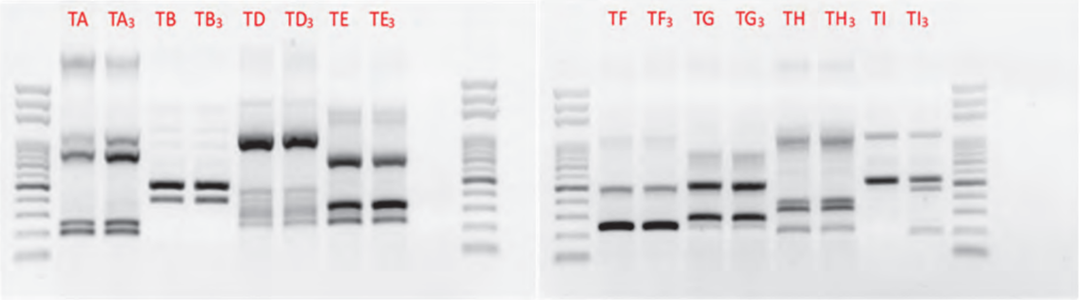


圖 5. 番茄瓶栽培養 30 d 根中回篩菌株的 BOX-PCR 指紋圖譜

(三) 菠菜瓶栽試驗

將經種子發芽生物分析測試其對於番茄生長促進具有潛力之 10 株溶磷菌菌株 N13、OTPB4、OTA1-2A、OTA1-2I、S-NaCl-3、K-NaCl-5、W-NaCl-3、W-NaCl-5、OT03D、OT03G 以瓶栽試驗測試其接種於番茄種子對於植物生長的影響，經過 30 d 的生長經統計結果如圖 7 所示。結果顯示接種 N13、OTPB4 及 S-NaCl-3 對於番茄地上部乾重有明顯促進的效果，與未接種的處理相比較，分別提高了 94.8%、34.2%和 30.0%。其餘菌株對於番茄地上部的乾重則沒有顯著促進的效果。

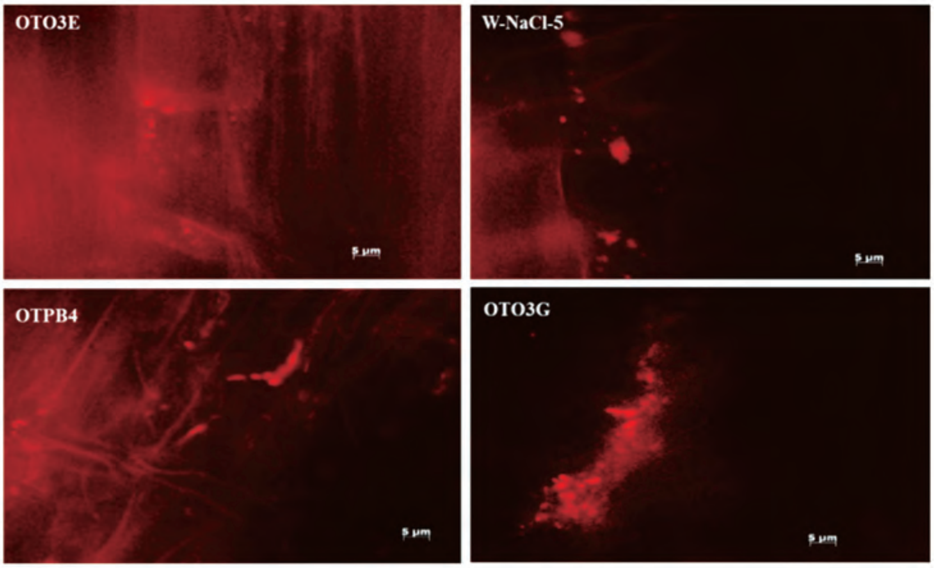


圖 6. 番茄瓶栽培養 30 d 根中回篩菌株的螢光原位雜合分析

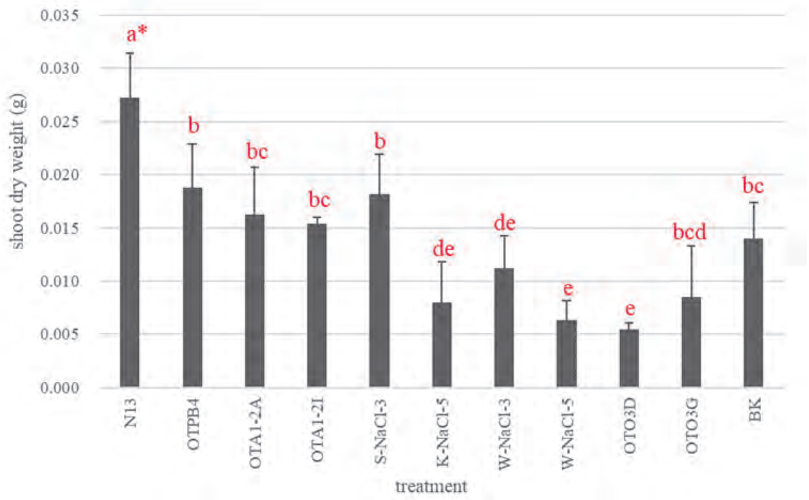


圖 7. 瓶栽試驗接種溶磷菌對於菠菜 30 d 生長地上部乾重

四、溫室盆栽試驗

(一) 甘藍菜溫室試驗

(1) 甘藍菜溫室試驗統計結果分析

甘藍菜盆栽試驗於溫室生長 60 d 及各處理生長比較情形如圖 8 所示，菌 A 為 OT03C *Pseudoarthrobacter niigatensis*、菌 B 為 K-NaCl-7 *Bacillus marisflavi*，可看出甘藍菜外表型態添加菌液的處理有約略優於較半量化肥處理。圖 9 為甘藍菜地上部平均鮮重統計分析，統計結果顯示全量化肥 (1CF) 為所有處理中地上部平均鮮重最高的處理，而添加菌液的處理於統計結果上皆明顯優於半量化肥處理，並具有顯著差異，結果顯示添加 OT03C *Pseudoarthrobacter niigatensis*、K-NaCl-7 *Bacillus marisflavi* 皆具有促進甘藍生長的效果，雖然無法達到全量化肥處理。

圖 8. 甘藍於溫室 60 d 生長狀況

(2) 甘藍菜溶磷菌適應性試驗結果

專一性之螢光探針觀察各菌株於甘藍根表面拓殖化的情形如圖 10 所示，甘藍接種 OT03C *Pseudoarthrobacter niigatensis*，於圖 10-a 根圈微及圖 10-b 根表於專一性螢光探針偵測下，OT03C 皆有被螢光顯微鏡偵測出，表示甘藍接種 OT03C 確

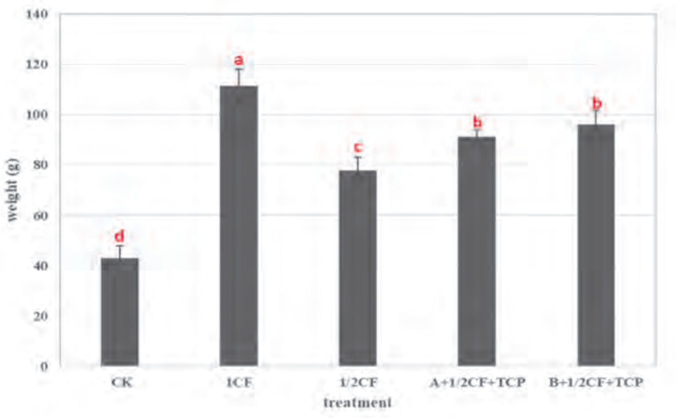


圖 9. 甘藍生長 60 d 地上部平均鮮重

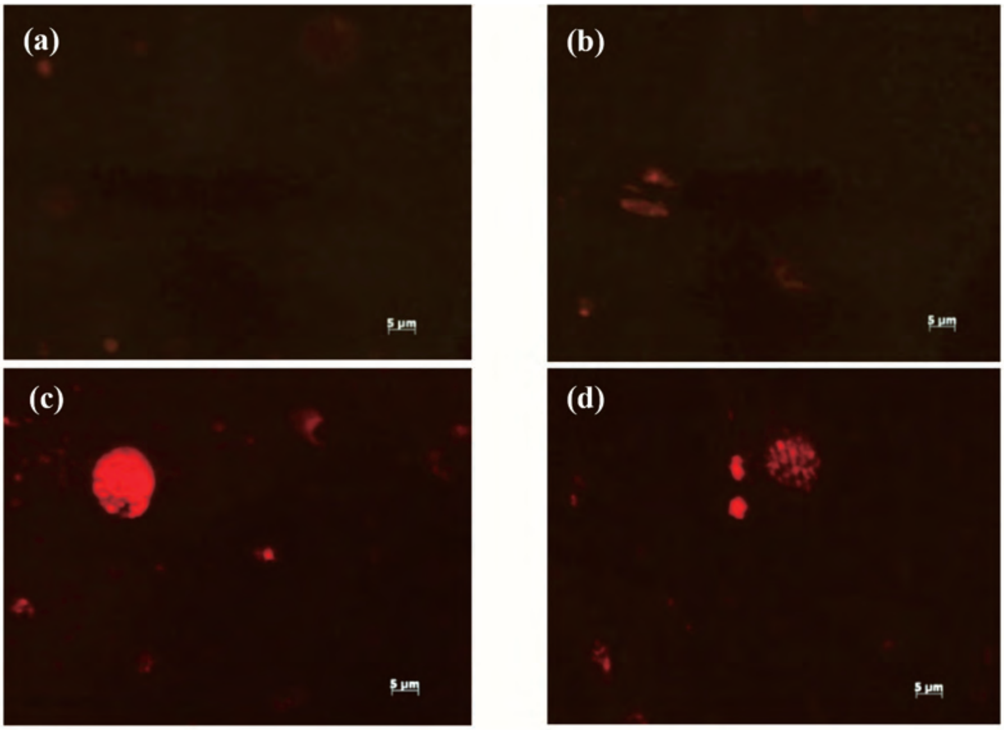


圖 10. 菌株 OT03C、菌株 K-NaCl-7 根圈及根表螢光原位雜合結果
(a)OT03C 根圈 (b) OT03C 根表 (c) K-NaCl-7 根圈 (d) K-NaCl-7 根表

實存在於甘藍根圈及根表微生物相，但其螢光反應相較於其他處理弱，推論有可能為微生物族群較少之因素。K-NaCl-7 *Bacillus marisflavi* 於專一性螢光探針偵測下，圖 10-c 根圈及圖 10-d 根表，K-NaCl-7 皆有被螢光顯微鏡偵測出，表示接種 K-NaCl-7 確實存在於甘藍根圈及根表微生物相，且 K-NaCl-7 會有群聚現象，雖然為不同盆栽但其相較於 OT03C 菌株更容易被探針偵測到，可能其微生物族群於甘藍根圈及根表適應性較佳族群數量較多，因此更容易被偵測出，而此現象也略表現於甘藍鮮重上，雖未達到顯著差異。

(二) 番茄溫室試驗

(1) 番茄溫室試驗統計結果分析

番茄盆栽試驗生長 60 d 生長狀況如圖 11 所示，由於番茄非一次性採收之作物，故調查其開花及結果數量，第一期平均結果數量如圖 12-a 所示，其中菌 A 為 S-NB-2 *Brevundimonas albigilva* 及菌 B 為 W-NaCl-3 *Gordonia hongkongensis*，添加菌液的處理皆略多於半量化肥處理，其中添加 W-NaCl-3 *Gordonia hongkongensi* 相較於半量化肥處理有達到顯著差異的水準，且與全量化肥為同一顯著差異等級。番茄盆栽試驗 60 d 總產量如圖 12-b 所示，番茄於第 60 d 總產量添加菌液之處理皆

圖 11. 番茄於溫室生長 60 d 狀況

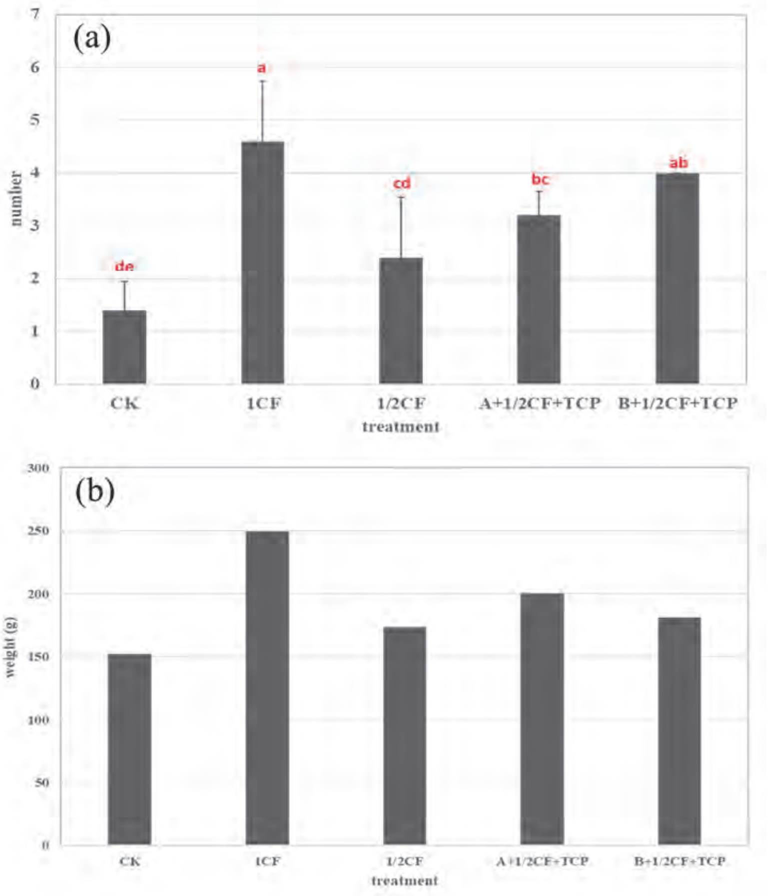


圖 12. (a)番茄生長 45 d 平均結果數量 (b)番茄生長 60 d 結果重量統計

略高於半量化肥處理，但未達到全量化肥處理之水平。由於番茄採果期較長，控制組已停滯生長，半量化肥處理於第三、第四花序有開始落花不結果之情形，而添加菌液處理番茄植株上尚有第三、第四花序果實尚未成熟，故待番茄完全成熟採收後，其差異性可能會更加明顯。

(2) 甘藍菜溶磷菌適應性試驗結果

專一性之螢光探針觀察各菌株於番茄根表面拓殖化的情形如圖 13 所示，番茄接種 S-NB-2 *Brevundimonas albigilva*，圖 13-a 根圈及圖 13-b 根表於專一性螢光探針偵測下，S-NB-2 皆有被螢光顯微鏡偵測出，表示番茄接種 S-NB-2 確實存在於番茄根圈及根表微生物相。接種 W-NaCl-3 *Gordonia hongkongensis*，圖 13-c 根圈及 13-d 根表於專一性螢光探針偵測下，僅有在根圈微生物族群中有被偵測出，而在根表微生物族群中則未被偵測到，顯示 W-NaCl-3 偏好於根圈土壤環境中。

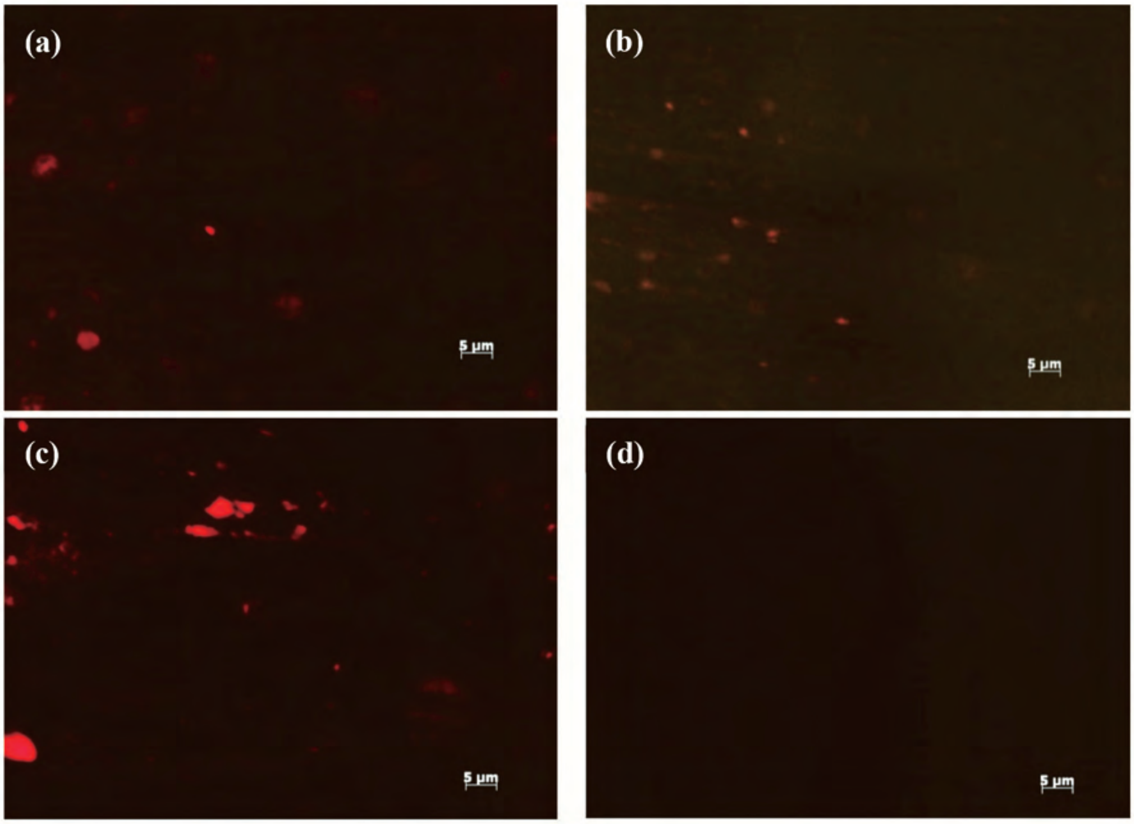


圖 13. 菌株 S-NB-2、菌株 W-NaCl-3 根圈及根表螢光原位雜合結果
(a) S-NB-2 根圈 (b) S-NB-2 根表 (c) W-NaCl-3 根圈 (d) W-NaCl-3 根表

(三) 菠菜溫室試驗

(1) 菠菜溫室試驗統計結果分析

菠菜盆栽試驗生長 30 d 生長狀況如圖 14 所示，其中菌 A 為 N13 *Paraburkholderia sacchari*，菌 B 為 OTPB4 *Bacillus xiamenensis*，由植株外表型態添加菌株處理皆優於半量化肥處理，且達到與全量化肥處理同一水平。菠菜種植 30 d 平均鮮重分析如圖 15 所示，添加菌液處理平均鮮重皆高於半量化肥處理，其中添加菌 A 處理與半量化肥處理有達到顯著差異，甚至於約略高於全量化肥處理。

(2) 菠菜溶磷菌適應性試驗結果

專一性之螢光探針觀察各菌株於菠菜根表面拓殖化的情形如圖 16 所示，菠菜接種 N13 *Paraburkholderia sacchari*，圖 16-a 根圈及圖 16-b 根表，於專一性螢光探針偵測下，N13 僅在菠菜根圈微生物有被螢光顯微鏡偵測出，根表微生物則未

被觀測出，表示 N13 可能偏好於根圈土壤環境中。OTPB4 *Bacillus xiamenensis* 於專一性螢光探針偵測下，圖 16-c 根圈及圖 16-d 根表，OTPB4 皆有被螢光顯微鏡偵測出，表示接種 OTPB4 確實存在於菠菜根圈及根表微生物相，但在根圈中偵測較微弱，可能其微生物族群較少不易被偵測。

圖 14. 菠菜於溫室生長 30 d 狀況

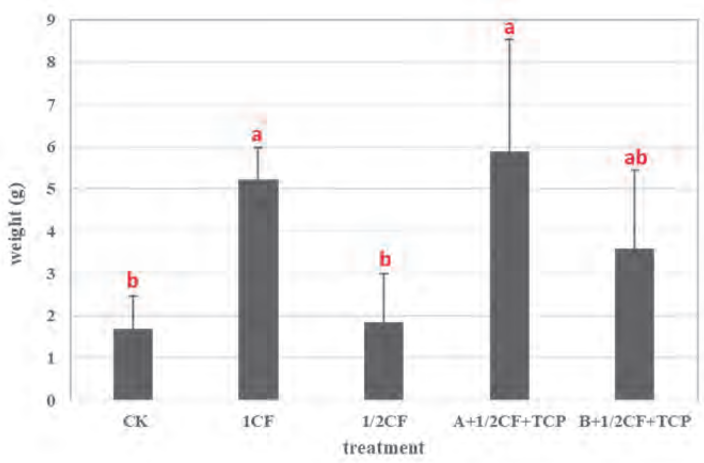


圖 15. 菠菜種植 30 d 平均鮮重

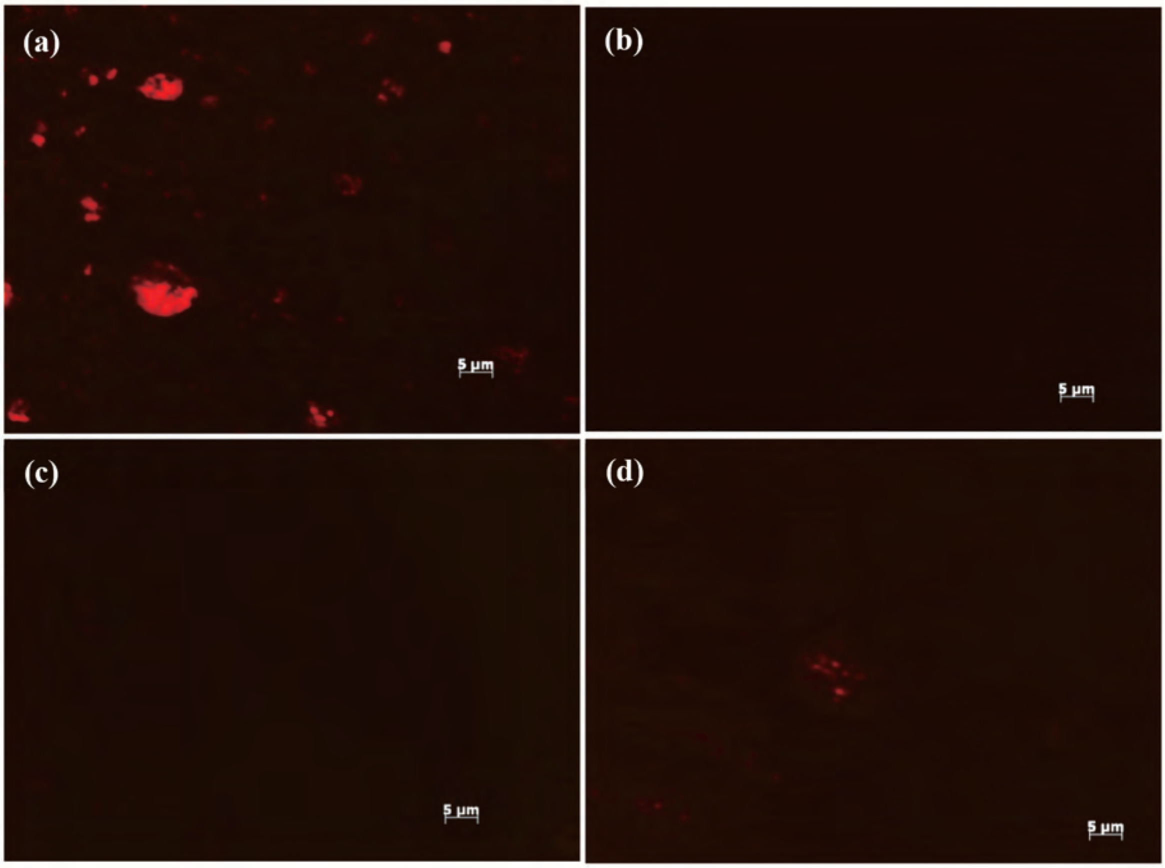


圖 16. 菌株 N13、菌株 OTPb4 根圈及根表螢光原位雜合結果

(a) N13 根圈 (b) N13 根表 (c) OTPB4 根圈 (d) OTPB4 根表

結論

經相容性測試篩選出之菌株進行盆栽試驗，顯示可提高盆栽甘藍菜生質量具適應性之菌種為 Bacillus marisflavi 與 Pseudoarthrobacter niigatensis；可提高盆栽番茄生質量具適應性之菌種為 Brevundimonas albigilva 與 Gordonia hongkongensis；可提高盆栽菠菜生質量具適應性之菌種為 Bacillus xiamenensis 與 Paraburkholderia sacchari。

本試驗針對溶磷菌肥功效研究，主要進行三階段的接種試驗進行篩選對作物具有促進或未抑制生長之溶磷菌作為最後之溶磷菌肥功效測試。第一階段種子發芽試驗，篩選之 50 株溶磷菌株接種於甘藍、番茄、菠菜，並非所有菌株皆對種子發芽具有促進之功效，與其溶磷能力、IAA 產生或 ACC 脫胺酵素活性也並非絕對的關係，甚至許多溶磷菌株更是有抑制幼苗生長的情形。第二階段 30 d 生長箱作物瓶栽相容性試驗，顯示篩選之 10 株促進生長或未抑制之溶磷菌株於純相環境中，也並非每株溶磷菌均有達到促進生長之功效，於生長過程中也可能產生抑制之現象。第三階段作物盆栽適應性試驗，於本試驗中相容性試驗篩選較佳之溶磷菌於盆栽試驗皆略有促進生長之功效，雖然大部分施菌處理皆未達到顯著差異，而且發現不同菌株於土壤環境中作用於根圈或根表也不同，而其族群大小可能也會影響產量。於一系列之溶磷菌肥功效試驗顯示：經過作物瓶栽相容性試驗能夠大幅篩選出不適用之溶磷菌株，對溶磷菌株產品的檢測有很大的幫助。

引用文獻

1. 行政院農委會農糧署。2013。肥料種類品目及規格。農糧字第 1021052625 號　附件二、肥料檢驗項目之檢驗方法。
2. 羅秋雄。2005。 作物施肥手冊。中華肥料協會。
3. Abdul-Baki, A. A. and J. D. Anderson. 1973. Relationship between decarboxilation of glutamic acid and vigour in soybean seed. Crop Sci.13: 222-226.
4. Altschul, S. F., T. L. Madden, A. A. Schaeffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, and D. J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database

search programs. Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402.
5. Amann, R. I., B. J. Binder, R. J. Olson, S. W. Chisholm, R. Devereux, and D. A. Stahl. 1990. Combination of 16S RNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. Appl. Environ. Microbiol. 56: 1919-1925.
6. Assmus, B., P. Hutzler, G. Kirchhof, R. Amann, J. R. Lawrence, A. Hartman. 1995. In situ localization of *Azospirillum brasilense* in the rhizosphere of wheat with fluorescently labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes and scanning confocal laser microscopy. Appl. Environ. Microbiol. 61: 1013-1019.
7. Brosius, J., M. L. Palmer, P. J. Kennedy, and H. R. Noller. 1978. Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene for *Escherichia coli*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 75: 4801- 4805.
8. Cavalca, L., A. Corsini, E. Canzi, and R. Zanchi. 2015. Rhizobacterial communities associated with spontaneous plant species in long-term arsenic contaminated soils. World J. Microbio. Biotechnol. 31: 735-746.
9. Chun, J., J. H. Lee, Y. Jung, M. Kim, S. Kim, B. K. Kim, and Y. W. Lim. 2007. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 57: 2259-2261.
10. Edwards, U., T. Rogall, H. Blocker, M. Emde, and E. C. Bottger. 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene encoding for 16S ribosomal RNA. Nucleic Acids Res. 17: 7843-7853.
11. Heiner, C. R., K. L. Hunkapiller, S. M. Chen, J. I. Glass, and E. Y. Chen. 1998. Sequencing multimegabase-template DNA with BigDye terminator chemistry. Genome Res. 8: 557-561.
12. Kelling, K., L. Bundy, S. Combs, and J. Peters. 1999. Optimum soil test levels for Wisconsin. Univ. Wis. Coop. Extn. Ser. Bull. No. A3030.
13. Koeuth, T., J. Versalovic, and J. R. Lupski. 1995. Differential subsequence conservation of interspersed repetitive *Streptococcus pneumoniae* BOX elements in diverse bacteria. Genome Res. 5: 408-418.
14. Krüger, U., F. Bak, J. Aamand, O. Nybroe, N. Badawi, and B. F. Smets. 2018. Novel method reveals a narrow phylogenetic distribution of bacterial dispersers in environmental communities exposed to low hydration conditions. Appl. Environ. Microbiol. 84: 1-16.
15. Lai, W. A., P. D. Rekha, A. B. Arun, and C. C. Young. 2008. Effect of mineral fertilizer, pig manure, and *Azospirillum rugosum* on growth and nutrient contents of *Lactuca sativa* L.

Biol. Fertil. Soils 45: 155-164.

16. Patten, C. L. and B. R. Glick. 2002. Regulation of indoleacetic acid production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by tryptophan and the stationery-phase sigma factor RpoS. Can. J. Microbiol. 48: 635-642.
17. Penrose, D. M. and B. R. Glick. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. Physiol. Plant. 118: 10-15.
18. Rashid, M. H. and A. Kornberg. 2000. Inorganic polyphosphate is needed for swimming, swarming, and twitching motilities of *Pseudomonas aeruginosa*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97: 4885-4890.
19. Watts, D. and J. R. MacBeath. 2001. Automated fluorescent DNA sequencing on the ABI PRISM 310 Genetic Analyzer. Methods Mol. Biol. 167: 153-170.
20. Willems, A. and M. D. Collins. 1993. Phylogenetic analysis of rhizobia and agrobacteria based on 16S rRNA gene sequences. Int. J. Syst. Bacteriol. 43: 305-313.
21. Young, C. C., P. Kämpfer, F. T. Shen, W. A. Lai, and A. B. Arun. 2005. *Chryseobacterium formosense* sp. nov., isolated from the rhizosphere of *Lactuca sativa* L. (garden lettuce). Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 55: 423-426.

Compatibility of Phosphate Solubilizing Bacteria Toward Crops with High Phosphorus Demand

Chun-Tse Chang[1], Wei-An Lai[2], Chiu-Chung Yang[3], and Fo-Ting Shen[4,*]

Summary

The present study was undertaken to study the colonizing behavior of phosphate solubilizing bacteria toward crops with high phosphorus demand. Motility, IAA and ACC deaminase producing abilities of phosphate solubilizing bacteria were screened first to obtain superior candidates. Bacterial inoculations were performed in seed bioassay and flask experiment. Considered for plant growth and bacterial colonization, the compatibilities of phosphate solubilizing bacteria toward cabbage, spinach and tomato were evaluated. The niche fitness of bacteria in soils will also be demonstrated in pot experiment. Out of the tested 35 strains were subjected to seed bioassay, and 8, 8, 3 strains were beneficial to seed germination of cabbage, tomato and spinach, respectively. Among them, 2 strains increased dry weight of above part of cabbage, 4 strains increased dry weight of above part of tomato, and 3 strains increased dry weight of above part of spinach. After 30 days of cultivation, inoculated strains still survived on root surface, as demonstrated using BOX-PCR fingerprinting of re-isolated strains and fluorescence *in situ* hybridization technique with EUB338 probe. Pot experiments

[*] Corresponding author, e-mail: ftshen@dragon.nchu.edu.tw
[1] Researcher Assistant, Department of Soil and Environmental Science, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
[2] Postdoctoral Researcher, Department of Soil and Environmental Science, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
[3] Professor, Department of Soil and Environmental Sciences, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC. Academician of the Academia Sinica.
[4] Associate Professor, Department of Soil and Environmental Science, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.

showed that *Bacillus marisflavi* and *Pseudoarthrobacter niigatensis* can promote growth of cabbage, *Brevundimonas albigilva* and *Gordonia hongkongensis* can promote growth of tomato while *Bacillus xiamenensis* and *Paraburkholderia sacchari* can promote growth of spinach.

Keywords: Microbial fertilizer, phosphate solubilizing bacteria, cabbage, tomato, spinach, gene fluorescent probe.

溶磷菌溶磷效率特性之評估

徐妤瑄[1]、黃政華[2,*]

摘要

磷肥常為影響作物產量的重要因子之一，作物接種溶磷菌常作為提高作物磷吸收的策略，故商品化的溶磷菌肥料已因應市場而產生。本研究計畫目的在於評估本研究主要探討培養基種類對溶磷菌溶磷活性和有機酸分泌的影響，並評估 4 種市售溶磷菌肥料對促進莧菜生長和磷吸收的效應。本研究使用 12 株菌株和 4 種溶磷培養基，培養基包含 AFS3183-1 培養基 (蔗糖或葡萄糖)、NBRIP 及 Pikovskaya's medium (PVK)，以評估培養基對溶磷活性、培養基 pH、菌數落和有機酸分泌量的影響。盆栽試驗使用鹼性和酸性土壤，鹼性土壤施用之商品化溶磷菌肥料為 PSB2 和 PSB3，酸性土壤施用之溶磷菌肥料為 PSB1 和 PSB4，分別探討溶磷菌肥料對莧菜生長和磷吸收的影響。結果顯示，培養基種類顯著影響溶磷菌之溶磷活性，供試菌株中以 *Pseudomonas grimontii* CHB 1107 之溶磷活性為最高，其培養於 AFS3183-1 以葡萄糖為碳源之溶磷活性達 7946 μg/mL/day。整體而言，溶磷菌培養於 PVK 培養基之溶磷活性顯著高於培養於其他培養基者，其可能由於 PVK 培養基所含的養分較高有關，且僅此培養基含酵母抽出物。培養基之 pH 與溶磷活性呈顯著負相關 ($r = -0.75, P < 0.0001$)，顯示酸性環境有助於培養基中磷酸三鈣之溶解。培養基種類顯著影響溶磷菌菌株分泌有機酸的種類和濃度，供試菌株分泌之有機酸濃度以 2-ketogluconic acid、gluconic acid 及 pyruvic acid 為較高，且溶磷菌分泌此三種酸的濃度與溶磷活性呈顯著負相關，其中 2-ketogluconic acid 有最高之相關係數達 0.66。盆栽試驗顯示，半量化學肥料+PSB3 和半量化學肥料+滅菌 PSB3 之莧菜植株乾重顯著高於半量化學肥料者達 125-140%。然而，等量 PSB3 化學肥料處理之植株乾重顯著高於半量化學肥料者達 83.6%，顯示該溶磷菌肥料中

* 通訊作者：chhuang@nchu.edu.tw
[1] 國立中興大學土壤環境科學系碩士班學生。台灣。台中市。
[2] 國立中興大學土壤環境科學系副教授。台灣。台中市。

所含養分的效應遠大於溶磷菌本身促進植株生長之效應。相反的，半量化學肥料+PSB2和半量化學肥料+滅菌之PSB2並未顯著促進植株生長。半量化學肥料+PSB3處理和半量化學肥料+滅菌 PSB3 處理之植株磷吸收量顯著高於半量化學肥料者達 54.8-73.9%，但等量 PSB3 化學肥料處理之植株磷吸收量亦顯著高於半量化學肥料者達 41.0%，顯示該溶磷菌肥料中所含的磷肥可能為顯著增加植株磷吸收量之主要原因。然而，半量化學肥料+PSB2 處理之植株磷吸收量顯著高於半量化學肥料+滅菌之 PSB2 達 38.0%，顯示此溶磷菌肥料可顯著增加植株磷吸收量。與半量化學肥料相較，酸性土壤施用半量化學肥料+PSB1 或半量化學肥料+PSB4 皆顯著降低莧菜植株乾重。此外，酸性土壤施用半量化學肥料+PSB1 或半量化學肥料+PSB4 皆未能顯著增加磷吸收量，顯示酸性土壤施用溶磷菌肥料促進莧菜生長和磷吸收之效益較低。培養基種類影響溶磷菌之溶磷活性分析，商品化溶磷菌功效不一，而原料中養分含量可能顯著影響其肥功效。

關鍵詞：磷肥、溶磷菌、微生物肥料。

前言

磷是植物生長所需的巨量養分之一，其佔植體乾重約 0.2%，但磷常為限制植物生長的養分 (Alori *et al*. 2017)。一般而言，土壤的總磷含量約為 0.05% (w/w)，但其中可供植物吸收利用的磷僅佔 0.1%。傳統上，施用化學磷肥以避免作物缺磷，但施用的磷肥常易被固定於土壤中而降低其有效性，且過量施用磷肥亦產生環境汙染。因此，如何增進土壤中磷的有效性、促進作物產量及減少磷肥從土壤中損失的環境汙染是重要的研究議題。

土壤中可溶解無機磷或分解有機磷的微生物，可增加土壤中磷的有效性，增加植物的磷吸收量，此類微生物可稱為溶磷微生物 (phosphorus solubilizing microorganisms) (Sharma *et al*. 2013；Alori *et al*. 2017)。溶磷菌肥料為我國微生物肥料類之主要登記品目 (品目編號 8-03)，其溶磷活性乃分析單位體積 (重量) 之溶磷菌肥料，在單位時間內將難溶性含磷無機礦物 (磷酸鈣、磷酸鋁、磷酸鐵或磷礦石粉) 分解為水溶性磷之量，其尚未包含分解有機磷之微生物。澳洲對溶磷菌之檢

測已包含溶磷定量和磷酸酶活性的分析，以確保溶磷菌肥料之功效 (Deaker *et al*. 2011)。然而，培養時間和培養基之碳源是否影響溶磷活性之判讀則有待研究。

溶無機磷活性、溶磷圈測試、磷酸酶、有機酸分析及吲哚乙酸 (IAA) 常作為評估溶菌磷之促進作物磷吸收量之指標，唯國內溶磷菌肥料僅考量溶無機磷活性，其他溶磷能力指標是否可納入溶磷菌肥料溶磷活性之檢驗項目則需進一步研究。此外，某些溶磷菌可耐高鹽害土壤之環境，且能表現溶磷能力，有利於增加鹽鹼土的有效性磷，促進磷之吸收 (Zhu *et al*. 2011)。因此，土壤或作物接種溶磷菌是增加植物磷吸收量和降低化學磷肥施用量的可行策略之一。雖然溶磷菌可施用於土壤或根圈以促進磷的有效性，但有關土壤環境因子如何影響溶磷菌之功效的研究未臻完善。接種於土壤的溶磷菌可能隨時間而降低其族群密度 (Zeng *et al*. 2017)，故定期施用溶磷菌微生物以維持溶磷菌之溶磷功效可能有其必要性。再者，雖然螢光蛋白標定方法常用於追蹤特定溶磷菌 (Wang *et al*. 2017)，但有關如何定量土壤溶磷菌之族群則需進一步研究，以確定溶磷微生物是否可在土壤中生存。

一般測定溶磷活性之溶磷培養基碳源以葡萄糖為主，唯我國測定溶磷活性之培養基以蔗糖為碳源，但溶磷培養基之碳源可能影響溶磷菌的溶磷活性 (Nautiyal *et al*. 2000)。本研究主要探討培養基種類對溶磷活性和有機酸分泌的影響，並評估四種市售溶磷菌肥料對促進莧菜生長和磷吸收的效應。

材料與方法

一、溶磷菌之溶磷活性評估

(一) 供試菌株

本研究共使用 12 株菌株，包含為 *Bacillus*、*Microbacterium*、*Paenibacillus* 及 *Pseudomonas* 屬之微生物 (表 1)，其中以 *Bacillus* 為主要的溶磷菌，並為我國主要溶磷菌肥料所使用之菌種。

(二) 培養基

本研究所使用的培養基成分如表 2 所示，包含 NBRIP、Pikovskaya’s medium (PVK) 及我國溶磷菌分析法 AFS3183-1 所使用之培養基。三種培養基之主要差異為碳源，AFS3183-1 所使用之碳源為蔗糖，NBRIP 及 PVK 以葡萄糖為碳源。因此，

本研究亦將 AFS3183-1 所使用之蔗糖改為等量之葡萄糖，以評估同一培養基中不同碳源之差異，故本研究共使用四種培養基。

表 1. 本研究所使用之菌株

Strain	Species	Source
CHB 1065	*Bacillus aryabhattai*	This study
CHB 1107	*Pseudomonas grimontii*	This study
CHB 1122	*Pseudomonas libanensis*	This study
CHB 1128	*Bacillus marisflavi*	This study
CHB 1228	*Paenibacillus* sp.	This study
CHB 1257	*Bacillus subtilis*	This study
CHB 1264	*Microbacterium testaceum*	This study
CHB 1404	*Bacillus amyloliquefaciens*	This study
CHB 1285	*Bacillus subtilis*	Commercial phosphate solubilizing biofertilizer (PSB)1
CHB 1286	*Bacillus licheniformis*	Commercial PSB2
CHB 1287	*Bacillus safensis*	Commercial PSB3
CHB 1288	*Bacillus amyloliquefaciens*	Commercial PSB4

表 2. 本研究所使用之培養基及其組成

Component	PVK	NBRIP	AFS3183-1
	------------------------------------ g/L --		
Glucose	10	10	—
Sucrose	—	—	10
$Ca_3(PO_4)_2$	5	5	5
$(NH_4)_2SO_4$	0.5	0.5	—
NH_4NO_3			0.27
NaCl	0.2	—	—
$MgSO_4$ • $7H_2O$	0.1	0.25	0.1
$MgCl_2$ • $6H_2O$	—	0.5	—
KCl	0.2	0.2	0.2
Yeast extract	0.5	—	—
$MnSO_4$ • $4H_2O$	0.002	—	0.001
$FeSO_4$ • $7H_2O$	0.002	—	0.001

(三) 菌株培養

於 250 mL 三角燒瓶中分別配製含 100 mL 之上述四種液體培養基，每 100 mL 含 0.5 g 之磷酸三鈣。將細菌培養於 NA 培養基上 28℃ 2 d，以無菌去離子水洗下菌落，將液體培養基接種 1 mL 含 10^8 CFU/mL 之菌落懸浮液，使液體培養基中之最終溶磷菌濃度為 10^6 CFU/mL。將培養基置於 28℃ 震盪培養 (200 rpm) 4 d 後，分析定溶液 pH 值變化、菌落數、可溶性磷含量、有機酸含量及種類。

(四) 培養基之 pH

將 5 mL 液體培養離心 (12000 x *g*) 以分離菌體，再以 pH 計測定上清液之 pH。

(五) 溶磷菌之菌數

取 1 mL 液體培養基以連續稀釋菌液，並取 100 μl 稀釋液塗抹於個別培養溶磷菌之固體溶磷菌培養基進行培養，培養後 2-4 d 計算菌落形成單位 (Colony-forming unit, CFU)。

(六) 溶液磷之分析

取 1 mL 液體培養基，以 0.45 μm 微濾膜過濾，濾液中的磷含量以鉬黃法測定 (AFS3183-1)，以分光光度計測定 420 nm 之吸光值。磷標準線以磷含量分別為 0、1、3、5、10、15、20 及 25 mg/L 所測得之吸收值而得。

(七) 有機酸之 HPLC 分析

取 1 mL 液體培養基，以 0.22 μm 微濾膜過濾至 HPLC 分析樣品瓶中。分析葡萄糖酸 (Gluconic acid) 及 2-酮戊二酸 (2-ketogluconic acid) 之樣品需先和乙腈以 1:1 (v/v) 比例混合再進行過濾，但含有蔗糖之培養基則不需混入乙腈。葡萄糖酸及 2-酮戊二酸之 HPLC 分析條件為: 以 Shodex NH_2 管柱、移動相為 3 mM 磷酸鉀緩衝液 (pH 6.0) + 75% ACN (乙腈)、流速為 0.8 mL/min (0-10 min) 及 1.2 mL/min (10-25 min)、管柱溫度為 35℃及以 210 nm 為偵測波長。酒石酸 (Tartaric acid)、冰醋酸 (Acetic acid)、檸檬酸 (Citric acid)、蘋果酸 (Malic acid)、富馬酸 (Fumaric acid)、馬來酸 (Maleic acid)、甲酸 (Formic acid)、琥珀酸 (Succinic acid) 及草酸 (Oxalic acid)之分析條件為: 以 RPAQUEOUS-AR C30 管柱、移動相為 50 mM KH_2PO_4 (pH=2.8)、流速為 0.8 mL/min (0-10 min)及 1.2 mL/min (10-25 min)、管柱溫度為 30℃及以 210 nm 為偵測波長，上述 HPLC 分析以 Hitachi Chromaster 5110 進行之。

二、市售溶磷菌肥料之功效評估

(一) 供試土壤

本研究之供試土壤共兩種，包含鹼性和酸性土壤。鹼性土壤採自彰化縣大村鄉二林系土壤 (Eh4)，係為橄欖色至淡橄欖棕色，微鹼性粘板岩老沖積物沉積而成之含石灰結核，排水不完全沖積土。該土壤之 $pH_{1:1}$ 為 8.04，電導度為 0.55 dS/m (土:水 = 1:1)，有效性磷 (Olsen P) 為 47.0 mg/kg，交換性鉀為 72.0 mg/kg，交換性鈣為 1430 mg/kg，交換性鎂為 128 mg/kg。酸性土壤採自台中市龍井區陳厝寮系土壤 (CCe7)，其為由洪積層發育而成的紅棕色紅壤，該土壤之 $pH_{1:1}$ 為 4.55，電導度為 0.38 dS/m (土:水 = 1:1)，有效性磷 (Bray-1 P) 為 22.8 mg/kg，交換性鉀為 325 mg/kg，交換性鈣為 184 mg/kg，交換性鎂為 34.3 mg/kg。

(二) 供試市售溶磷菌肥料

鹼性土壤使用之商品化溶磷菌肥料 PSB2 和 PSB3，酸性土壤所使用之商品化溶磷菌肥料為 PSB1 和 PSB4，唯先前試驗顯示，陳厝寮系土壤種植莧菜不利其生長，即使添加溶磷菌亦生長不良，故該土壤預添加 1%禽畜糞堆肥 [牛糞、雞糞、豬糞、金針菇廢棄物和下腳料 (含粗糠、豬毛和雞毛) 之混合比例為 1:1:1:5:2 (w/w)] 以改善其土壤肥力和酸鹼值。

(三) 肥料處理

處理 A: 全量化肥 ($N:P_2O_5:K_2O$ = 150:105:135 kg/ha)

處理 B: 半量化學肥料 ($N:P_2O_5:K_2O$ = 75:52.5:67.5 kg/ha)

處理 C: 半量化學肥料 + PSB3 (鹼性土讓) 或 PSB1 (酸性土壤)

處理 D: 半量化學肥料 + PSB2 (鹼性土壤) 或 PSB4 (酸性土壤)

處理 E: 半量化學肥料 + 滅菌之 PSB3 或 PSB1

處理 F: 半量化學肥料 + 滅菌之 PSB2 或 PSB4

處理 G: 等量 PSB3 或 PSB1 之化學肥料

處理 H: 等量 PSB2 或 PSB4 之化學肥料

將上述肥料處理施用於盆栽土壤 (500 g) 中，並將水分含量調整至 60% 最大容水量，每週施用溶磷菌處理 (含滅菌處理)，稀釋 400 倍後每盆施用 50 mL，處理 G 和 H 亦同時施用等量化學肥料，以評估溶磷菌肥料中養分之效應。種植後一個月進行採收，分析其植株乾重和植體磷吸收量。

(四)植體養分磷含量分析

烘乾磨碎後之植體以硫酸和雙氧水於 250℃ 高溫爐中進行分解，分解液以鉬黃法測定磷含量 (Tan 1996)。

三、統計分析

調查數據以統計軟體 SAS (version 9.4; SAS Institute, Gary, NC, USA) 之 Proc Glimmix 進行分析，並依數據資料特性選擇合適之數學模式，並以 LSMEANS (least squared means) 指令進行處理平均間之比較 (α = 0.05) 進行特定處理或群組之比較。此外，溶磷活性與培養基 pH、菌數及有機酸之 Pearson 相關分析亦以 SAS 分析。

結果與討論

一、溶磷菌之溶磷活性評估

(一) 溶磷活性

供試 12 株菌中以 CHB 1107 培養於 AFS3183-1、葡萄糖為碳源之培養基之溶磷活性為最高 (7946 μg/mL/day)，且該菌株培養於 AFS3183-1 (葡萄糖) 之溶磷活性顯著高於培養於 AFS3183-1 (蔗糖)、NBRIP 及 PVK 培養基中，顯示培養基成分顯著影響溶磷菌之溶磷活性 (表 3)。然而，同屬 *Pseudomonas* 之 CHB 1122 培養於 PVK 培養基確有顯著較高之溶磷活性，顯示不同菌種在不同培養基之溶磷活性差異。整體而言，溶磷菌培養於 PVK 培養基之溶磷活性顯著高於培養於其他培養基者，其可能由於 PVK 培養基所含的養分較高有關，且僅此培養基含酵母抽出物。

(二) 培養基之 pH 變化

一般而言，培養基之 pH 與溶磷活性則呈負相關，當 pH 值越低時溶解磷酸三鈣的含量越高，例如 CHB 1107 和 CHB 1128 培養於 AFS3183-1 (葡萄糖) 之培養液 pH 顯著低於以碳源為蔗糖之相同培養基 AFS3183-1 (蔗糖) (表 3 和表 4)。培養基之 pH 與溶磷活性呈顯著負相關 ($r = -0.75$, $P < 0.0001$)，顯示酸性環境有助於培養基中磷酸三鈣之溶解 (Marra *et al*. 2015)。溶磷機制除了有機酸的鉗合作用以外，質子 (H^+) 的釋放導致培養基的酸化亦可能也是重要的溶磷因子之一 (Illmer & Schinner 1995)。除了有機酸可以貢獻 H^+ 外，對微生物而言，在生長及新陳代謝

的過程中也會產生無機酸，例如呼吸作用會產生二氧化碳，溶於水後產生碳酸。此外，微生物吸收 NH_4^+，細胞為了維持電中性也會釋出質子，導致周圍土壤或培養基的 pH 值下降。

表 3. 培養基對溶磷菌溶磷活性之影響

	Phosphate-solubilizing activity (μg/mL/day)			
	Culture medium			
	AFS3183-1			
Strain	Glucose	Sucrose	NBRIP	Pikovskaya
1285	69.9fgB[z]	87.6fB	417eB	1071fA
1286	592deA	854cdA	848cdA	713fA
1287	473deB	617c-eB	511deB	2670eA
1288	197e-gB	309fB	540deB	973fA
1404	445d-gB	471d-eB	422deB	928fA
1264	695cdB	343fB	492deB	4001cA
1122	2831bC	2532aC	4981bB	5512aA
1107	7946aA	182fD	5541aB	4297cC
1065	731cdB	873cB	972cB	4919bA
1128	260e-gB	1003cA	1017cA	847fA
1228	1059cC	1589bB	1030cC	3399dA
1257	108fgB	75.8fB	362eB	848fA

[z] Means followed by the same uppercase letter within a row or lowercase letter within a column are not significantly different according to Fisher's LSD at 5% probability.

表 4. 溶磷菌培養於不同培養基 4 d 後之培養基 pH

	pH			
	Culture medium			
	AFS3183-1			
Strain	Glucose	Sucrose	NBRIP	Pikovskaya
1285	6.82aA[z]	6.87aA	6.01aB	5.38dC
1286	5.84cB	5.81fB	5.62dC	6.33aA
1287	6.23bA	5.84fB	5.70cdC	5.19eD
1288	6.76aA	6.81abA	5.79bcB	5.43cdC
1404	5.93cAB	5.99deA	5.85bB	5.45cdC
1264	5.61dB	5.85fA	5.44eC	4.80gD
1122	5.92cA	5.09hB	4.70fC	4.52iD
1107	4.65eC	5.93efA	4.65fC	5.69bB
1065	6.14bA	6.10cdA	5.44eB	4.66hC
1128	5.92cA	5.46gB	5.40eB	5.44cdB
1228	6.25bA	6.15cA	5.37eB	4.96fC
1257	6.70aA	6.73bA	5.88bB	5.53cC

[z] Means followed by the same uppercase letter within a row or lowercase letter within a column are not significantly different according to Fisher's LSD at 5% probability.

(三)菌落數之變化

培養基種類和菌株間之交感效應呈顯著差異，顯示不同溶磷菌株之菌落數顯著受培養基種類之影響。雖然 CHB 1107 培養於 AFS3183-1 (葡萄糖) 有較高之溶磷活性，但培養四天後之培養基 pH 為 4.65，菌數卻僅為 10^4 CFU/mL，推測可能代謝物濃度過高對微生物生長產生毒害之故 (表 5)。相關分析結果顯示，菌落數與溶磷活性並無顯著相關 (-0.07, $P < 0.0001$)，例如 CHB 1122 培養於四種培養基之菌數都相對較高，但與培養於相同培養基之其他溶磷菌菌株相較，其溶磷活性並未全部顯著高於其他菌株。

(四)有機酸之分析

培養基種類顯著影響溶磷菌菌株分泌有機酸之種類和濃度，供試菌株分泌之有機酸濃度以 2-ketogluconic acid、gluconic acid 及 pyruvic acid 為較高，且此三種酸分泌之濃度與溶磷活性呈顯著相關，其中 2-ketogluconic acid 有最高之相關係數達 0.66 (表 6)。供試溶磷菌株分泌的 gluconic acid 皆低於 120 mg/l，培養基種類對大部分菌株分泌 gluconic acid 的影響無顯著差異，但 CHB 1122 和 CHB 1065 則

表 5. 溶磷菌培養於不同培養基 4 d 後之菌數

	Log (CFU/mL)			
	Culture medium			
	AFS3183-1			
Strain	Glucose	Sucrose	NBRIP	Pikovskaya
1285	7.45efA[z]	7.62eA	7.10eB	5.00fC
1286	8.80bA	8.61bAB	7.75cC	8.52bB
1287	8.11dB	8.45bA	8.09bB	8.01cdB
1288	8.36cA	8.15cAB	7.36dC	8.12cB
1404	7.49efB	7.15fC	7.62cAB	7.82dA
1264	8.18cdB	8.20cB	8.01bB	9.62aA
1122	9.51aA	9.02aB	8.54aC	9.51aA
1107	4.00gD	8.89aB	8.11bC	9.41aA
1065	7.27fB	7.82deA	6.93eC	5.00fD
1128	4.00gB	7.03fA	6.95eA	4.00gB
1228	8.09dA	7.84deB	7.61cB	4.00gC
1257	7.53eA	8.00cdA	6.89eC	6.26eD

[z] Means followed by the same uppercase letter within a row or lowercase letter within a column are not significantly different according to Fisher's LSD at 5% probability.

以培養於 Pikovskaya's medium 有較高之 gluconic acid 分泌量。然而，CHB 1264 培養於 AFS3183-1 (葡萄葡) 之 gluconic acid 分泌量顯著高於其它培養基處理 (表 7)。整體而言，溶磷活性較高之*Pseudomonas* spp.分泌的有機酸主要以 2-ketogluconic acid 為主，CHB 1107 培養於 AFS3183-1 (葡萄葡) 之 2-ketogluconic acid 分泌量高達 2259 mg/l，而 CHB 1122 培養於 Pikovskaya's medium 之 2-ketogluconic acid 分泌量 (1175 mg/l) 顯著高於培養於其它培養基處理 (表 8)。一般而言，供試溶磷菌菌株分泌 pyruvic acid 的量較少，溶磷活性較高之 CHB 1107 亦產生少量之 pyruvic acid，唯 CHB 1264、CHB 1128 及 CHB 1228 可產生高於 100 mg/l 之 pyruvic acid (表 9)。

表 6. 溶磷菌菌株分泌之有機酸種類與溶磷活性之相關分析

	Acetic acid	Citric acid	Formic acid	Gluconic acid	2-ketogluconic acid	Malic acid	Maleic acid	Pyruvic acid	Oxalic acid
r[z]	-0.02	0.10	0.07	0.31	0.66	-0.15	0.06	0.30	-0.05
P	0.8051	0.2163	0.4234	0.0003	<0.0001	0.0686	0.4917	0.0003	0.5711

[z] Pearson's correlation coefficient was determined based on twelve phosphate-solubilizing bacteria evaluated.

表 7. 溶磷菌培養於不同培養基 4 d 後之葡萄糖酸 (gluconic acid) 含量

	Gluconic acid (mg/l)			
	Culture medium			
	AFS3183-1			
Strain	Glucose	Sucrose	NBRIP	Pikovskaya
1285	0.23cA[y]	ND[z]	0.32dA	0.13bA
1286	ND	0.03bA	2.53dA	0.14bA
1287	1.08cA	5.94bA	0.34dA	21.7bA
1288	8.53cA	0.95bA	11.4cdA	0.37bA
1404	1.37cA	ND	9.56cdA	2.03bA
1264	95.2aA	0.45bB	0.06dB	0.03bB
1122	2.53cC	63.4aB	50.7abB	108aA
1107	ND	1.48bB	36.7bcA	0.07bB
1065	22.2bcC	ND	70.8aB	116aA
1128	52.0bAB	25.5bB	22.5b-dB	83.4aA
1228	9.93cA	0.10bA	ND	ND
1257	19.0cA	3.52bA	ND	16.0bA

[y] Means followed by the same uppercase letter within a row or lowercase letter within a column are not significantly different according to Fisher's LSD at 5% probability.
[z] ND = not detected.

表 8. 溶磷菌培養於不同培養基 4 d 後之 2-酮戊二酸 (2-ketogluconic acid) 含量

Strain	2-ketogluconic acid (mg/L)			
	Culture medium			
	AFS3183-1			
	Glucose	Sucrose	NBRIP	Pikovskaya
1285	ND	ND	0.76bA	1.93bA
1286	85.9cA	26.2bA	7.02bA	28.5bA
1287	33.4cA	1.97bA	2.90bA	4.57bA
1288	0.21cA	4.92bA	3.67bA	0.31bA
1404	6.53cA	ND	2.93bA	0.63bA
1264	249cA	7.80bA	0.33bA	0.03bA
1122	995bAB	788aB	365aC	1175aA
1107	2259aA	65.1bC	79.0abC	1254aB
1065	0.13cA[y]	ND[z]	ND	0.27bA
1128	ND	0.03bA	0.47bA	7.18bA
1228	ND	ND	ND	ND
1257	19.7cA	12.6bA	173abA	ND

[y] Means followed by the same uppercase letter within a row or lowercase letter within a column are not significantly different according to Fisher’s LSD at 5% probability.

[z] ND = not detected.

表 9. 溶磷菌培養於不同培養基 4 d 後之丙酮酸 (pyruvic acid) 含量

Strain	Pyruvic acid (mg/l)			
	Culture medium			
	AFS3183-1			
	Glucose	Sucrose	NBRIP	Pikovskaya
1285	7.21bA[y]	0.32aA	6.24dA	0.31bA
1286	0.72bA	4.47aA	0.98dA	0.44bA
1287	1.01bA	1.32aA	3.70dA	11.2bA
1288	8.13bA	1.05aB	42.2cA	2.69bB
1404	0.87bA	6.11aA	2.93dA	0.62bA
1264	215aA	25.2aC	177bB	12.9bC
1122	0.03bB	9.90aB	151bA	0.13bB
1107	7.72bB	2.42aB	453aA	0.08bB
1065	6.91bA	2.78aA	14.7cdA	0.01bA
1128	11.1bB	29.9aB	175bA	30.8bB
1228	1.20bB	2.62aB	10.5cdB	645aA
1257	1.75bA	1.13aA	3.57dA	ND[z]

[y] Means followed by the same uppercase letter within a row or lowercase letter within a column are not significantly different according to Fisher’s LSD at 5% probability.

[z] ND = not detected.

二、盆栽試驗

(一) 二林系土壤 (鹼性土壤)

1. 株高

除等量 PSB3 化學肥料 (處理 H) 外，半量化學肥料+PSB3 (處理 C) 和半量化學肥料+滅菌 PSB3 (處理 E) 之莧菜株高皆顯著高於其他處理，顯示該溶磷菌肥料中的養分顯著影響株高。此外，半量化學肥料+PSB2 (處理 D)、半量化學肥料+滅菌之 PSB2 (處理 F) 和等量 PSB2 化學肥料處理 (處理 I) 之株高並未顯著高於半量化學肥料 (處理 B) 和不施肥處理 (處理 G)，顯示 PSB2 之溶磷菌和養分皆未能顯著影響株高 (圖 1)。

2. 莧菜植株乾重

半量化學肥料+PSB3 和半量化學肥料+滅菌 PSB3 之莧菜植株乾重皆顯著高於其他處理，兩種處理之植株乾重顯著高於半量化學肥料者達 125-140%。然而，等量 PSB3 化學肥料處理之植株乾重顯著高於半量化學肥料者達 83.6%，顯示該溶磷菌肥料中所含養分的效應遠大於溶磷菌本身促進

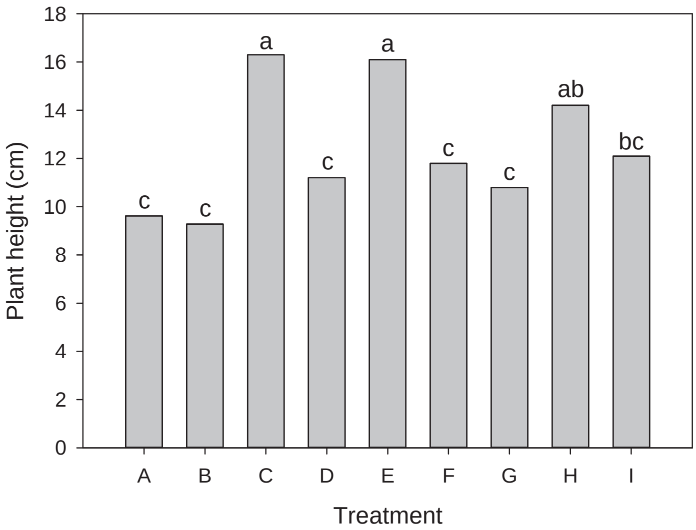


圖 1. 二林系土壤 (鹼性土壤) 施用溶磷菌肥料對莧菜株高的影響。A = 全量化學肥料; B = 半量化學肥料; C = 半量化學肥料+PSB3; D = 半量化學肥料+PSB2; E = 半量化學肥料+滅菌之 PSB3; F = 半量化學肥料+滅菌之 PSB2; G = 不施肥; H = 等量 PSB3 化學肥料; I =等量 PSB2 化學肥料。

植株生長之效應。相反的，半量化學肥料+PSB2 和半量化學肥料+滅菌 PSB2 並未顯著促進植株生長。此外，等量 PSB2 化學肥料處理 (處理 I) 之植株乾重亦未顯著高於半量化學肥料者，故該溶磷菌肥料並未能顯著促進作物生長 (圖 2)。

3. 植體磷吸收量

半量化學肥料+PSB3 處理之莧菜植株磷吸收量皆顯著高於其他處理，但與半量化學肥料+滅菌 PSB3 處理未達顯著。半量化學肥料+PSB3 處理和半量化學肥料+滅菌 PSB3 處理之植株磷吸收量顯著高於半量化學肥料者達 54.8-73.9%。然而，等量 PSB3 化學肥料處理之植株磷吸收量顯著高於半量化學肥料者達 41.0%，顯示該溶磷菌肥料中所含的磷肥可能為顯著增加植株磷吸收量之主要原因。再者，半量化學肥料+PSB2 處理之植株磷吸收量顯著高於半量化學肥料+滅菌之 PSB2 達 38.0%，且等量 PSB2 化學肥料之植株磷吸收量並未顯著高於半量化學肥料+滅菌之 PSB2，顯示該溶磷菌肥料可顯著增加莧菜之磷吸收量 (圖 3)。

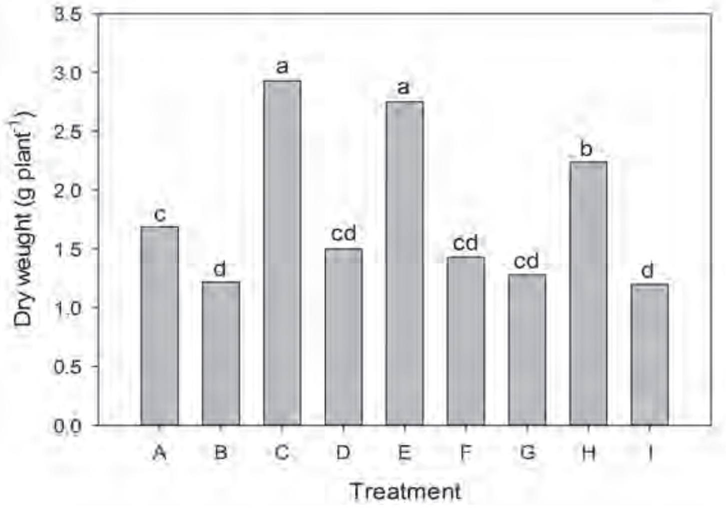


圖 2. 二林系土壤 (鹼性土壤) 施用溶磷菌肥料對植株乾重的影響。A = 全量化學肥料; B = 半量化學肥料; C = 半量化學肥料+PSB3; D = 半量化學肥料+PSB2; E = 半量化學肥料+滅菌之 PSB3; F = 半量化學肥料+滅菌之 PSB2; G = 不施肥; H = 等量 PSB3 化學肥料; I =等量 PSB2 化學肥料。

(二)陳厝寮系土壤 (酸性土壤)

1.株高

與半量化學肥料相較，陳厝寮系土壤施用 PSB1 或 PSB4 並未顯著增加莧菜株高，且兩者之滅菌處理或等量化學肥料處理亦未能顯著增加植株，顯示前述兩種溶磷菌微生物肥料之溶磷菌及其中所含養分皆未能顯著影響株高 (圖 4)。

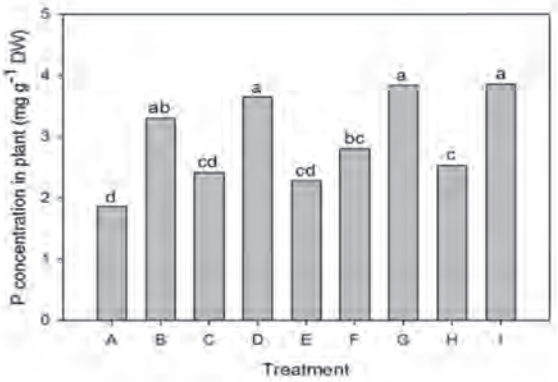


圖 3. 二林系土壤 (鹼性土壤) 施用溶磷菌肥料對莧菜植株磷吸收量的影響。A = 全量化學肥料; B = 半量化學肥料; C = 半量化學肥料+PSB3; D = 半量化學肥料+PSB2; E = 半量化學肥料+滅菌之 PSB3; F = 半量化學肥料+滅菌之 PSB2; G = 不施肥; H = 等量 PSB3 化學肥料; I =等量 PSB2 化學肥料。

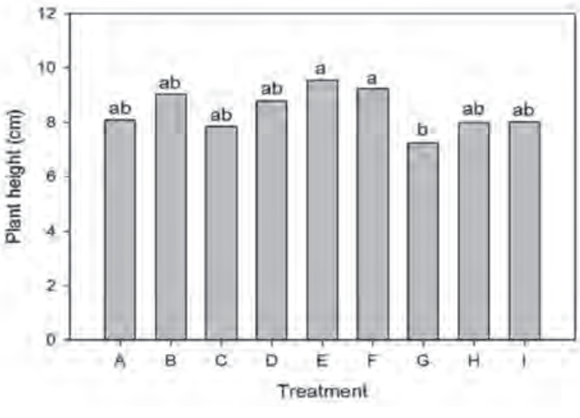


圖 4. 陳厝寮系土壤 (酸性土壤) 施用溶磷菌肥料對莧菜株高的影響。A = 全量化學肥料; B = 半量化學肥料; C = 半量化學肥料+PSB1; D = 半量化學肥料+PSB4; E = 半量化學肥料+滅菌之 PSB1; F = 半量化學肥料+滅菌之 PSB4; G = 不施肥; H = 等量 PSB1 化學肥料; I =等量 PSB4 化學肥料。

2.莧菜植株乾重

與半量化學肥料相較，酸性土壤施用半量化學肥料+PSB1 或半量化學肥料+PSB1 顯著降低莧菜植株乾重 (圖 5)。然而，兩種溶磷菌肥料之滅菌處理卻未顯著降低植株乾重，故推測可能陳厝寮系土壤添加 1% 禽畜糞堆肥後增加其養分有效性，而施用溶磷菌肥料可能造成微生物與植物根部競爭養分吸收，導致莧菜植株生長不良。

3. 植體磷吸收量

與半量化學肥料相較，酸性土壤施用半量化學肥料+PSB1 或半量化學肥料+PSB4 皆未能顯著增加磷吸收量。然而，滅菌之 PSB1 和滅菌之 PSB4 皆較未滅菌處理可顯著增加莧菜植株之磷吸收量。PSB1 之原料為 *B. subtilis* 和糊精，而 PSB4 之原料含 *B. amyloliquefaciens*、大豆蛋白、乳糖、糖蜜及水，推測溶磷菌肥料 PSB1 和 PSB4 滅菌後所釋出之養分可能誘導土壤微生物活性，並提高土壤有效性磷，進而促進莧菜根部之磷吸收量。此外，等量 PSB1 和等量 PSB4 化學肥料處理之植株磷吸收量皆顯著高於半量化學肥料+個別微生物肥料處理，顯示酸性土壤接種溶磷菌肥料可能有不利作物生長之虞 (圖 6)。

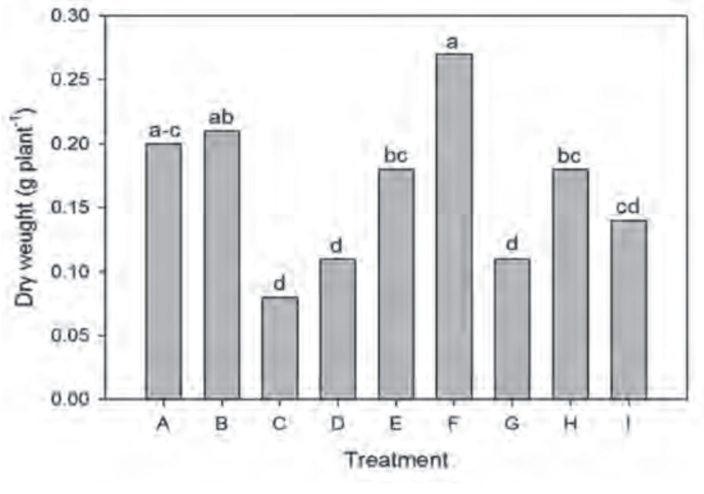


圖 5. 陳厝寮系土壤 (酸性土壤) 施用溶磷菌肥料對莧菜乾重的影響。A = 全量化學肥料; B = 半量化學肥料; C = 半量化學肥料+PSB1; D = 半量化學肥料+PSB4; E = 半量化學肥料+滅菌之 PSB1; F = 半量化學肥料+滅菌之 PSB4; G = 不施肥; H = 等量 PSB1 化學肥料; I =等量 PSB4 化學肥料。

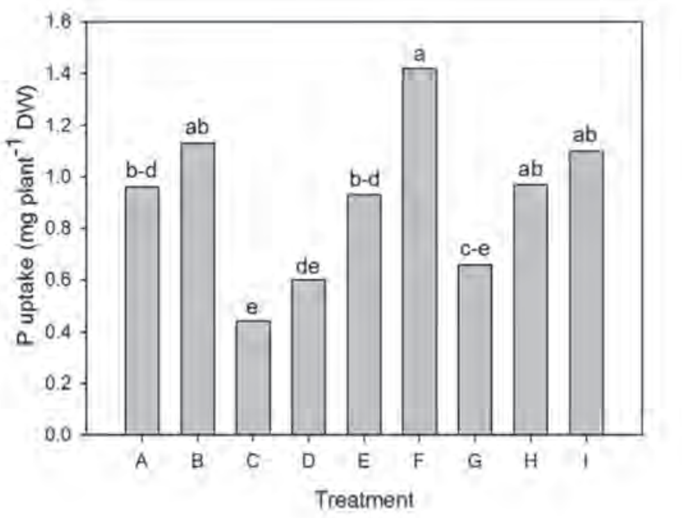


圖 6. 陳厝寮系土壤 (酸性土壤) 施用溶磷菌肥料對莧菜植株磷吸收量的影響。A = 全量化學肥料; B = 半量化學肥料; C = 半量化學肥料+PSB1; D = 半量化學肥料+PSB4; E = 半量化學肥料+滅菌之 PSB1; F = 半量化學肥料+滅菌之 PSB4; G = 不施肥; H = 等量 PSB1 化學肥料; I =等量 PSB4 化學肥料。

結論

本研究顯示，培養基種類顯著影響溶磷菌之溶磷活性，供試菌株中以 *Pseudomonas grimontii* CHB 1107 之溶磷活性為最高，其培養於 AFS3183-1 以葡萄糖為碳源之溶磷活性達 7946 μg/mL/day。整體而言，溶磷菌培養於 PVK 培養基之溶磷活性顯著高於培養於其他培養基者，其可能由於 PVK 培養基所含的養分較高有關，且僅此培養基含酵母抽出物。培養基之 pH 與溶磷活性呈顯著負相關 ($r = -0.75$, $P < 0.0001$)，顯示酸性環境有助於培養基中磷酸三鈣之溶解。培養基種類顯著影響溶磷菌菌株分泌有機酸種類和濃度，分泌之有機酸濃度以 2-ketogluconic acid、gluconic acid 及 pyruvic acid 為較高，且此三種酸分泌之濃度與溶磷活性呈顯著負相關，其中 2-ketogluconic acid 有最高之相關係數達 0.66。盆栽試驗顯示，半量化學肥料+PSB3 和半量化學肥料+滅菌 PSB3 之莧菜植株乾重皆顯著高於其他處理，兩種處理之植株乾重顯著高於半量化學肥料者達 125-140%。然而，等量 PSB3 化學肥料處理之植株乾重顯著高於半量化學肥料者達 83.6%，顯示該溶磷菌肥料中

所含養分的效應遠大於溶磷菌本身促進植株生長之效應。相反的，半量化學肥料+PSB2和半量化學肥料+滅菌之PSB2並未顯著促進植株生長。半量化學肥料+PSB3之莧菜植株磷吸收量皆顯著高於其他處理，但與半量化學肥料+滅菌 PSB3 處理並未達顯著。半量化學肥料+PSB3 處理和半量化學肥料+滅菌 PSB3 處理之植株磷吸收量顯著高於半量化學肥料者達 54.8-73.9%，但等量 PSB3 化學肥料處理之植株磷吸收量亦顯著高於半量化學肥料者達 41.0%，顯示該溶磷菌肥料中所含的磷肥可能為顯著增加植株磷吸收量之主要原因。然而，半量化學肥料+PSB2 處理之植株磷吸收量顯著高於半量化學肥料+滅菌之 PSB2 達 38.0%，且等量 PSB2 化學肥料之植株磷吸收量並未顯著高於半量化學肥料+滅菌之 PSB2，顯示該溶磷菌肥料可顯著增加植株磷吸收量。與半量化學肥料相較，酸性土壤施用半量化學肥料+PSB1或半量化學肥料+PSB4 顯著降低莧菜植株乾重。此外，酸性土壤施用半量化學肥料+PSB1 或半量化學肥料+PSB4 皆未能顯著增加磷吸收量，顯示酸性土壤施用溶磷菌肥料促進莧菜生長和磷吸收之效益較低。本研究發現培養基種類影響溶磷菌之溶磷活性分析，且商品化溶磷菌功效不一，而原料中養分可能顯著影響其肥功效。

引用文獻

1. Alori, E.T., B.R. Glick, and O.O. Babalola. 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. Front. Microbiol. 8: 971.
2. Illmer, P., and F. Schinner. 1995. Solubilization of inorganiccalcium phosphate-solubilization mechanisms. Soil Biol. Biochem. 27: 257–263.
3. Marra, L.M., S.M. de Oliveira-Longatti, C.R.F.S. Soares, J.M. de Lima, F.L. Olivares, and F.M.S. Moreira. 2015. Initial pH of medium affects organic acids production but do not affect phosphate solubilization. Braz. J. Microbiol. 46: 367–365.
4. Nautiyal, C.S., S. Bhadauria, P. Kumar, H. Lal, R. Mondal, and D. Verma. 2000. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. FEMS Microbiol. Lett. 182: 291–296.
5. Sharma, S.B., R.Z. Sayyed, M.H. Trivedi, and T.A. Gobi. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils.

Springerplus 2: 587.
6. Wang, Z., G.Y. Xu, P.D. Ma, Y.B. Lin, X.N. Yang, and C.L. Cao. 2017. Isolation and characterization of a phosphorus-solubilizing bacterium from rhizosphere soils and its colonization of Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*). Front. Microbiol. 8: 1270.
7. Zeng, Q.W., X.Q. Wu, and X.Y. Wen. 2017. Identification and characterization of the rhizosphere phosphate-solubilizing bacterium *Pseudomonas frederiksbergensis* JW-SD2 and its plant growth-promoting effects on poplar seedlings. Ann. Microbiol. 67: 219–230.
8. Zhu, F.L., L.Y. Qu, X.G. Hong, and X.Q. Sun. 2011. Isolation and characterization of a phosphate-solubilizing halophilic bacterium *Kushneria* sp. YCWA18 from Daqiao saltern on the coast of Yellow Sea of China. Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2011: 615032.

Evaluation of Phosphate-solubilizing Efficiency Characters of Phosphate-solubilizing Bacteria

Yu-Syuan Hsu[1], Cheng-Hua Huang[2,*]

Summary

Phosphate fertilization is an important factor to influence crop yields. It has been suggested that inoculation of crops with phosphate-solubilizing bacteria (PSB) can enhance phosphate uptake, and thus commercialized products of PSB are increasingly available for growers. The purposes of this study were to evaluate the effects of culture media on phosphate-solubilizing activity and organic acids produced and to determine the efficiency of four commercial phosphate-solubilizing (PS) biofertilziers. Twelve PSB strains and four culture media including AFS3183-1 (glucose or sucrose as sole carbon source), NBRIP, and Pikovskaya's medium (PVK) were used to evaluate their effects on PS activity, medium pH, PSB colonies, and organic acids secreted by PSB. In order to evaluate the effect of four commercial PS biofertilizers on the growth and P uptake of amaranth plants (*Amaranthus mangostanus* L.), commercial PSB2 and PSB3 were applied into an alkaline soil and the other two commercial PSB1 and PSB1 were used in an acid soil. Culture media significantly affected phosphate-solubilizing activities of PSB, and *Pseudomonas grimontii* CHB 1107 showed a significantly high level of PS activity up to 7946 μg/mL/day. In general, PSB cultured in PVK resulted in a higher level of PS activity partly because of this medium containing yeast extract. There was a significantly negative correlation between medium pH and PS activity (r = -0.75, P < 0.0001), suggesting acidic conditions helpful for solubilizing tricalcium phosphate. In addition, culture media significantly affected the concentration of organic

[*] Corresponding author, e-mail: chhuang@nchu.edu.tw
[1] Graduate Student, Department of Soil and Environmental Sciences, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
[2] Associate Professor, Department of Soil and Environmental Sciences, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.

acids secreted by PSB. Of these organic acids, the concentration of 2-ketogluconic acid, gluconic acid, and pyruvic acid were the highest. PS activity was significantly correlated with the concentration of these three organic acids, with the highest Pearson correlation coefficient of -0.66 for 2-ketogluconic acid. Compared with half the recommended rate of chemical fertilizers, the alkaline soil applied with half the recommended rate of chemical fertilizers with non-sterilized or sterilized PSB3 resulted in a significant increase in dry weight by 125-140%. However, the chemical fertilizer treatment equal to the nutrient content in PSB3 also significantly increased dry weight by 83.6%, suggesting that the nutrients rather than PSB in PSB3 might significantly improve amaranth growth. In contrast, half the recommended rate of chemical fertilizers with non-sterilized or sterilized PSB2 did not significantly improve amaranth growth. The alkaline soil applied with half the recommended rate of chemical fertilizers with non-sterilized or sterilized PSB3 significantly increased P uptake of amaranth by 54.8-73.9% in comparison with half the recommended rate alone. However, the chemical fertilizer treatment equal to the nutrient content in PSB3 also significantly increased P uptake of amaranth up to 41.0%, suggesting that phosphate fertilization rather than PSB in PSB3 might significantly increase P uptake of amaranth. Conversely, half the recommended rate of chemical fertilizers with non-sterilized PSB2 significantly increased P uptake of amaranth by 38.0% compared to half the recommended rate with sterilized PSB2, suggesting that PSB in PSB2 could improve P uptake by amaranth roots. Compared with half the recommended rate of chemical fertilizers alone, the acid soil applied with half the recommended rate of chemical fertilizers with non-sterilized PSB1 or PSB4 significantly reduced dry weight of amaranth and did not increase P uptake of amaranth, suggesting a low efficiency of PSB in the acid soil. In conclusion, media used for culturing PSB affect PS activity, and commercial PSB vary in improving P uptake and plant growth. Moreover, the nutrients in these commercial biofertilizers may considerably affect nutrient uptake and growth of plants.

Keywords: Phosphate fertilizer, Phosphate-solubilizing bacteria, Biofertilizer.

市售溶磷菌肥料產品之盆栽肥 (功) 效評估

林素禎[1,*]、顏淑菁[2]

摘要

微生物肥料商品在田間施用時，常出現有效與無效兩極化之反應，使農民對微生物肥料缺乏信心。農業試驗所 2017 年從市面上購買溶磷菌肥料產品，測試這些產品對作物生長之效益，試驗作物為百日草，試驗土壤選擇紅壤與石灰質土壤，試驗地點在農業試驗所溫室。溶磷菌種類為市面上販售之 14 種溶磷菌肥料。試驗處理為接種 14 種溶磷菌肥料，另外也測試了這 14 種溶磷菌肥料載體之效果。試驗結果顯示：在鹼性土壤中，接種溶磷菌肥料產品 4 可增加百日草開花數 0.9 朵，及增加地上部磷吸收量 58%，而其載體亦可增加百日草開花數 0.9 朵及增加地上部磷吸收量 43%。接種溶磷菌肥料產品 10 對百日草開花數沒有影響，但可增加地上部乾重 13%及增加地上部磷吸收量 24%，而其載體可增加百日草開花數 0.5 朵，並增加百日草地上部乾重 15%及增加地上部磷吸收量 31%。其他 12 種溶磷菌肥料產品對百日草開花數、地上部乾重及磷吸收量無顯著促進效果。在酸性土壤中，接種溶磷菌肥料產品 4 可增加百日草開花數 0.7 朵及增加地上部乾重 5%，但對磷的吸收量沒有增加效果，而其載體可增加百日草開花數 1.2 朵，並增加地上部乾重 15%及增加磷吸收量 17%。接種溶磷菌肥料產品 13 可增加百日草地上部乾重 5%及地上部磷吸收量 8%，而其載體可增加百日草地上部乾重 12%及地上部磷吸收量 8%。其他 12 種溶磷菌肥料產品對百日草開花數、地上部乾重及磷吸收量無顯著促進效果。

關鍵詞：溶磷菌、肥(功)效評估。

[*] 通訊作者：linmay@tari.gov.tw
[1] 農委會農業試驗所農業化學組助理研究員。台灣。台中市。
[2] 農委會農業試驗所農業化學組計畫助理。台灣。台中市。

前言

農民每年在耕地土壤中施用大量化學肥料和農藥以提高作物產量，這些化學品可能導致重金屬，特別是鎘、鉛和砷的增加 (Atafar, et al. 2010)。Czarnecki & Düring (2015) 報導指出，長期施用化學肥料，土壤中的鎘、銅、錳、鉛與鋅含量會增加。Osztoics 等人 (2005) 報導指出，不同來源的磷酸鹽岩石可能含有不同量的重金屬和其他潛在的有毒元素或化合物。Gray 等人 (1999) 報導指出，長期施用過磷酸鈣，44 年後土壤中鎘的積累量很大，在高肥處理區（376 kg 過磷酸鹽 ha-1 yr-1）鎘的累積速率為 7.8 g ha^{-1} yr^{-1}。

臺灣自 2008 年起推動合理化施肥至 2014 年止，經由合理施用化學肥料，每年業已減少化學肥料施用量 10.7% ，平均每年約減少 12 萬公噸 (農委會農糧署農業統計年報 91-103 年, http://www.afa.gov.tw)，未來擬利用有機質肥料與微生物肥料之施用，期能再次降低化學肥料之施用量。

微生物肥料 (biofertilizer) 的商業化生產始於 1895 年，在美國和英國開始生產豆科植物用的根瘤固氮菌接種劑，到了 1993 年，根瘤固氮菌接種劑在世界各大洲許多國家都有生產 (Brockwell and Bottomley, 1995)。我國行政院農業委員會於 2010 年 7 月 29 日依「肥料管理法」修正「肥料種類品目及規格」公告增列微生物肥料類豆科根瘤菌肥料、游離固氮菌肥料、溶磷菌肥料、溶鉀菌肥料、複合微生物肥料及叢枝菌根菌肥料等 6 個肥料品目及規格，目前已取得登記證的溶磷菌肥料 (肥料品目 8-03) 有 36 個，溶鉀菌肥料 (肥料品目 8-04) 有 3 個，叢枝菌根菌肥料 (肥料品目 8-06) 有 1 個。 (http://fims.afa.gov.tw/WFR/PublicFun/QueryFertBrand.aspx，2018/05/26)

國內目前微生物肥料登記時得免附肥料效果試驗報告，且無定量的活性指標規範，而微生物肥料商品在田間施用時，常出現有效與無效兩極化之反應，使農民對微生物肥料缺乏信心。部分微生物農藥登記為微生物肥料上市販售，造成微生物農藥管理困擾，而農民在認知不清的情況下，施用未經政府把關且有殺菌或殺蟲功效的微生物，不僅徒增施用成本，亦有生態環境安全之隱憂。農業試驗所 2017 年與 2018 年從市面上購買溶磷菌肥料產品，測試這些產品對作物生長之效益，藉此瞭解市售溶磷菌肥料產品對作物是否真的具有肥效。

材料與方法

農業試驗所 2017 年從市面上購買 14 個溶磷菌肥料產品 (如表 1)，這 14 個溶磷菌肥料產品所使用的菌種共有 4 種，皆為芽孢桿菌屬或稱為桿菌屬 (*Bacillus*)，分別為沙福桿菌 (*Bacillus safensis*)、枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢桿菌 (*Bacillus licheniformis*) 及液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)。

表 1. 2017 年百日草盆栽肥功效評估試驗用之市售溶磷菌肥料產品

Table 1. Commercial phosphate-solubilizing microbial products evaluated for their fertility potential in Zinnia (Zinnia elegans) pot cultures, in 2017.

商品編號	原料	N (%)	P_2O_5 (%)	K_2O (%)	登記菌數
商品 1	*Bacillus safensis*、澱粉、黃豆粉。	0.2	0.1	–[z]	6.3×10^{10} CFU g^{-1}
商品 2	*Bacillus safensis*、澱粉。	–	–	–	2.1×10^{9} CFU g^{-1}
商品 3	*Bacillus subtilis*、糊精。	–	–	–	4.6×10^{7} CFU g^{-1}
商品 4	*Bacillus safensis*、澱粉、黃豆粉、尿素、磷酸一銨、磷酸一鉀。	17.0	11.8	18.1	2.0×10^{9} CFU g^{-1}
商品 5	*Bacillus safensis*、澱粉、砂糖、黃豆粉。	0.2	–	–	2.0×10^{9} CFU g^{-1}
商品 6	*Bacillus safensis*、澱粉、黃豆粉。	0.2	0.1	–	2.5×10^{9} CFU g^{-1}
商品 7	*Bacillus licheniformis*、NB 培養基、酵母粉、糖蜜、水、竹醋液。	1.1	0.4	0.6	1.9×10^{9} CFU mL^{-1}
商品 8	*Bacillus safensis*、菌粉、高嶺土。	0.5	0.1	0.6	2.0×10^{9} CFU g^{-1}
商品 9	*Bacillus amyloliquefaciens*、大豆蛋白、乳糖、糖蜜、水。	0.5	–	0.2	5.0×10^{9} CFU mL^{-1}
商品 10	*Bacillus subtillis*、糖蜜、酵母粉、磷酸一銨、尿素、硫酸鉀、水。	2.3	2.3	1.9	4.2×10^{8} CFU mL^{-1}
商品 11	*Bacillus subtilis* Y1336、酵母粉、玉米澱粉、乳糖、大豆蛋白、糖蜜、水。	0.3	0.6	0.2	5.3×10^{9} CFU mL^{-1}
商品 12	*Bacillus licheniformis*、黃豆粉、花生粕、菜籽粕、芝麻粕、米糠、海草粉。	4.7	1.5	3.0	4.4×10^{8} CFU g^{-1}
商品 13	*Bacillus licheniformis*、芝麻粕、米糠、棕櫚粕、椰子粕、聚合天門冬氨酸、磷酸一鉀、硫酸鉀、海草粉。	2.6	5.1	5.5	3.0×10^{8} CFU g^{-1}
商品 14	*Bacillus safensis*、澱粉。	–	–	–	1.8×10^{9} CFU g^{-1}

[z] 溶磷菌肥料產品無標示檢驗值

試驗作物為百日草，百日草品種為夢鄉品種，花色為濃桃色，其花期在夏天，但以台灣的氣候而言，南部地區全年都能栽植，未來若廠商申請盆栽評估試驗，其等待期不會太久。試驗地點在農業試驗所溫室。

試驗土壤有鹼性土壤與酸性土壤 (紅壤)，試驗前與作物採收後分析各項土壤理化性質，包括土壤酸鹼度 (pH 值)、電導度 (EC 值)、質地、有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅與硼含量。土壤 pH 值測定方法為水土重量比 1：1，以酸鹼度測定儀 (Suntex SP-701) 檢測之。土壤 EC 值測定方法為水土重量比 5：1，以電導度測定儀 (Denver Instrument Model 20) 檢測之。土壤質地以粒徑分析儀 (Beckman Coulter LS 13 320) 分析。有機質以總有機碳分析儀 (Elementar vario MAX C) 測定後換算為有機質含量。無機態氮含量先用 2M KCl 抽出後以自動分析儀 (Astoria Analyzer Series 300) 測定。有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅、硼含量先以 Mehlich-3 method (Mehlich 1984) 抽出後，以感應耦合電漿分析儀 (Inductively coupled plasma spectrometry, ICP, HORIBA Jobin Yvon ULTIMA2C) 測定。

試驗處理為接種 14 種溶磷菌肥料，而 14 種溶磷菌肥料再細分為滅菌與未滅菌兩處理，溶磷菌肥料產品滅菌處理後可瞭解微生物肥料載體的效果，上述 28 種處理再加上對照組共 29 種處理，每一處理 3 重複，每重複各種 5 盆。酸性土壤共計 435 盆，鹼性土壤共計 435 盆。試驗設計為逢機完全區集設計 (RCBD)。

鹼性土壤的百日草盆栽肥功效評估試驗，百日草播種時間為 2017 年 4 月，播種 21 d 後進行定植，定植 45 d 後進行採收。試驗土壤採自雲林縣水林地區之石灰質土壤，其土壤質地為壤土，pH 為 7.8。百日草栽培介質為鹼土：石英砂 = 3：1 (w/w)，並添加磷酸鈣 (0.5%)。調查及分析項目包括株高、葉數、花朵數、開花數、地上部鮮重與乾重，及百日草地上部各種營養元素分析。

酸性土壤的百日草盆栽肥功效評估試驗，百日草播種時間為 2017 年 5 月，播種 14 d 後進行定植，定植 45 d 後進行採收。試驗土壤採自桃園市楊梅地區之紅壤，其土壤質地為黏壤土，pH 為 4.9。百日草栽培介質為紅壤：石英砂 = 2：1 (w/w)，並添加磷酸鐵 (0.5%)。調查及分析項目包括株高、葉數、花朵數、開花數、地上部鮮重與乾重，及百日草地上部各種營養元素分析。

市售溶磷菌肥料產品劑型分為液劑、粉劑及粒劑，液劑與粉劑使用方法為稀

釋 400 倍，在百日草定植隔天進行溶磷菌稀釋液澆灌，每盆澆灌 200 mL，每週施用 1 次，連續施用 3 次。粒劑使用方法為在百日草定植前，先將菌劑與栽培土壤混拌均勻，菌劑施用量為每盆 1.5 g。在百日草的鹼性土壤盆栽試驗中，營養液的氮含量為 300 mg/kg，鉀含量為 250 mg/kg，鈣含量為 250 mg/kg，鎂含量為 50 mg/kg，微量元素含量與 Hoagland 營養液相同，每週施用 1 次，每盆 100 mL。在百日草的酸性土壤盆栽試驗中，營養液配方與鹼性土壤盆栽試驗相同，但每週施用 2 次，每盆 100 mL。

資料統計與分析：本文中百日草的生育調查資料及土壤分析資料，皆利用 SAS 套裝統計分析軟體先進行變方分析 (analysis of variance; ANOVA)，若處理效應顯著 ($P < 0.05$)，則再利用最小顯著性差異 (least significant difference; LSD) 測驗以比較各處理平均值間之差異性。

結果與討論

一、市售溶磷菌肥料產品在鹼性土壤中對百日草盆栽肥(功)效評估

14 種市售溶磷菌肥料產品及其滅菌後之產品（載體）在鹼性土壤中對百日草地上部生長之影響如表 2，由表 2 中可知，百日草接種溶磷菌肥料商品 8 與商品 8 載體可顯著 ($P < 0.05$) 增加株高，依序增加 2.5 cm 與 3.3 cm，而其他處理對百日草株高無顯著影響。百日草接種 14 種市售溶磷菌肥料產品及其載體對百日草葉數無顯著 ($P > 0.05$) 影響。百日草接種溶磷菌肥料商品 4 可增加百日草花朵數 0.8 朵，而商品 4 載體可增加百日草花朵數 0.9 朵，其他處理則對百日草花朵數無顯著影響。百日草接種溶磷菌肥料商品 4、商品 4 載體與商品 10 皆可顯著增加開花數，依序增加 0.9 朵，0.9 朵與 0.5 朵，而其他處理對百日草開花數無顯著影響。百日草接種 14 種市售溶磷菌肥料產品及其載體對花朵乾重、莖葉乾重及地上部乾重皆無顯著影響。百日草接種溶磷菌肥料商品 10 與商品 10 載體可增加百日草地上部乾重 13%與 15%。

百日草接種 14 種市售溶磷菌肥料產品及其載體在鹼性土壤中對地上部營養元素吸收之影響如表 3，由表 3 中可知，百日草接種溶磷菌肥料商品 4 與商品 4 載體可顯著增加地上部氮含量，依序增加 302 mg/plant 與 273 mg/plant，而溶磷菌

肥料商品 1、商品 3 載體與商品 14 載體皆可顯著降低百日草地上部氮含量，依序降低 203 mg/plant，206 mg/plant 與 186 mg/plant，其他處理則對百日草地上部氮含量無顯著影響。百日草接種溶磷菌肥料商品 4、商品 4 載體與商品 10 載體皆可顯著增加地上部磷含量，依序增加 58 mg/plant，43 mg/plant 與 31 mg/plant，其

表 2. 市售溶磷菌產品在鹼性土壤中對百日草生長之影響

Table 2. The influence of commercial phosphate-solubilizing microbial products on the growth of zinnia in alkaline soils.

處理	株高 (cm)	葉數 (No.)	花朵數 (No.)	開花數 (No.)	花乾重 (g/plant)	莖葉乾重 (g/plant)	地上部乾重 (g/plant)	相對生長量 (%)
CK	25.7	48.1	5.0	2.6	1.6	5.6	7.1	100
商品 1	25.3	45.7	4.7	2.7	1.4	4.4	5.8	81
商品 1 載體 [z]	24.9	42.7	4.7	2.4	1.5	4.7	6.2	86
商品 2	25.8	37.5	3.8	2.3	1.3	4.4	5.7	80
商品 2 載體	24.7	38.7	4.7	2.5	1.3	4.5	5.8	81
商品 3	23.8	42.9	4.9	2.5	1.4	4.1	5.5	77
商品 3 載體	26.5	41.3	4.5	2.5	1.4	4.5	5.9	82
商品 4	24.4	54.6	5.8	**3.5***	1.9	5.5	7.3	**103**
商品 4 載體	24.8	52.1	**5.9***	**3.5***	1.9	5.7	7.6	**106**
商品 5	24.8	42.2	4.4	2.7	1.2	4.1	5.3	74
商品 5 載體	25.7	45.9	4.6	3.0	1.6	4.5	6.1	86
商品 6	24.8	40.7	4.3	2.5	1.2	3.7	4.9	69
商品 6 載體	25.7	39.1	4.7	2.5	1.4	4.6	6.0	84
商品 7	24.3	45.3	5.4	2.9	1.6	4.9	6.5	92
商品 7 載體	24.8	42.1	4.9	3.0	1.7	5.1	6.8	95
商品 8	**28.2***	47.0	4.3	2.3	1.7	4.9	6.7	93
商品 8 載體	**29.0***	47.4	5.5	3.2	1.8	5.5	7.4	103
商品 9	27.2	44.5	4.5	2.3	1.2	4.7	5.9	83
商品 9 載體	24.7	45.6	4.7	2.6	1.0	4.7	5.7	80
商品 10	27.1	44.9	4.9	**3.1***	2.1	6.0	8.1	**113**
商品 10 載體	27.2	52.2	5.5	2.8	1.9	6.3	8.2	**115**
商品 11	24.8	45.1	5.1	2.9	1.6	4.9	6.4	90
商品 11 載體	24.9	52.0	5.3	3.1	1.9	5.8	7.7	108
商品 12	25.5	43.9	4.7	2.5	1.5	4.8	6.3	88
商品 12 載體	26.5	44.7	4.7	2.6	1.7	5.1	6.7	94
商品 13	27.0	48.2	5.1	2.8	1.6	5.2	6.8	95
商品 13 載體	26.1	37.6	3.6	2.3	1.1	3.6	4.7	66
商品 14	24.4	42.1	4.4	2.5	1.4	4.4	5.8	82
商品 14 載體	25.8	41.0	4.3	2.8	1.5	4.4	5.9	83
$LSD_{0.05}$	2.5	19.2	0.9	0.5	0.6	1.8	2.3	

[z] 商品經滅菌處理，對作物生長之效果來自微生物菌劑之載體。

* 與對照組差異達顯著水準 (LSD，P=0.05)。

表 3. 鹼性土壤中市售溶磷菌產品接種對百日草地上部營養吸收之影響
Table 3. The influence of commercial phosphate-solubilizing microbial products on the nutrient absorption and crop fresh weight of zinnia in alkaline soils.

處理	N 吸收量 (mg/plant)	P 吸收量 (mg/plant)	K 吸收量 (mg/plant)	Ca 吸收量 (mg/plant)	Mg 吸收量 (mg/plant)	磷相對吸收量 (%)
CK	803	100	1378	577	321	100
商品 1	**600***	95	1157	463	252	95
商品 1 載體 [z]	629	104	1203	502	288	104
商品 2	695	93	1119	467	269	93
商品 2 載體	637	98	1112	509	259	98
商品 3	628	93	1102	459	265	93
商品 3 載體	**597***	98	1148	450	259	98
商品 4	**1105***	**158***	1469	688	371	**157**
商品 4 載體	**1076***	**143***	1499	649	373	**143**
商品 5	623	88	1019	490	244	88
商品 5 載體	684	95	1162	515	278	95
商品 6	628	78	**930***	**394***	234	78
商品 6 載體	673	88	1146	450	257	88
商品 7	776	103	1317	521	297	103
商品 7 載體	754	103	1309	568	320	103
商品 8	695	111	1323	499	282	111
商品 8 載體	771	116	1445	560	308	116
商品 9	688	97	1198	461	263	97
商品 9 載體	661	82	1097	513	291	82
商品 10	825	124	1486	666	365	**124**
商品 10 載體	882	**131***	1552	634	359	**131**
商品 11	763	102	1203	521	297	102
商品 11 載體	800	114	1478	638	351	114
商品 12	788	102	1188	523	302	102
商品 12 載體	786	107	1251	522	297	107
商品 13	808	114	1356	533	299	114
商品 13 載體	620	85	**969***	**391***	**227***	85
商品 14	623	90	1127	471	257	90
商品 14 載體	**617***	98	1166	479	262	98
$LSD_{0.05}$	185	31	408	158	89	

[z] 商品經滅菌處理，對作物生長之效果來自微生物菌劑之載體。
* 與對照組差異達顯著水準 (LSD，P=0.05)。

他處理對百日草地上部磷含量無顯著影響。百日草接種溶磷菌肥料商品 6 與商品 13 載體可顯著降低地上部鉀含量，依序降低 448 mg/plant 與 409 mg/plant，其他處理則對百日草地上部鉀含量無顯著影響。百日草接種溶磷菌肥料商品 6 與商品 13 載體可顯著降低地上部鈣含量，依序降低 183 mg/plant 與 186 mg/plant，其他

處理則對百日草地上部鈣含量無顯著影響。百日草接種商品 13 載體可顯著降低地上部鎂含量 94 mg/plant，其他處理則對百日草地上部鎂含量無顯著影響。

百日草盆栽肥（功）效評估試驗用鹼性土壤之理化性質分析如表 4，由表 4 中可知，試驗前栽培土壤之 pH 為 7.8，EC 值 304 μS cm^{-1}，有機質含量 17 g kg^{-1}，無機態氮含量 49 mg kg^{-1}，有效性磷含量 276 mg kg^{-1}，有效性鉀含量 255 mg kg^{-1}，有效性鈣含量 2764 mg kg^{-1}，有效性鎂含量 404 mg kg^{-1}。百日草採收後，對照組土壤 pH 值為 7.7，與試驗前無顯著差異。其他 28 個處理之栽培土壤 pH 值與對照組亦無顯著差異。百日草接種商品 4 載體之栽培土壤其 EC 值最高 (265 μS cm^{-1}) ，其他處理與對照組 (195 μS cm^{-1}) 無顯著差異。各處理栽培土壤之有機質含量與對照組 (19 g kg^{-1}) 皆無顯著差異。百日草接種商品 4 與商品 4 載體之栽培土壤，其無機態氮含量最高，依序比對照組 (9 g kg^{-1}) 高 6 g kg^{-1} 與 9 g kg^{-1}，其他處理與對照組無顯著差異。百日草接種商品 4 與商品 4 載體之栽培土壤，其有效性磷含量最高，依序比對照組 (293 g kg^{-1}) 高 44 g kg^{-1} 與 47 g kg^{-1}，其他處理與對照組無顯著差異。百日草接種商品 2、商品 4、商品 4 載體及商品 13 載體之栽培土壤，其有效性鉀含量皆顯著比對照組 (196 g kg^{-1}) 高，依序比對照組高 52 g kg^{-1} ，79 g kg^{-1}，75 g kg^{-1} 與 57 g kg^{-1}，其他處理與對照組無顯著差異。百日草接種商品 2 與商品 9 載體之栽培土壤，其有效性鈣含量皆顯著比對照組 (2885 g kg^{-1}) 高，依序比對照組高 478 g kg^{-1} 與 364 g kg^{-1}，其他處理與對照組無顯著差異。澆灌商品 2 之栽培土壤，其有效性鎂含量顯著比對照組 (377 g kg^{-1}) 高 74 g kg^{-1}，其他處理與對照組無顯著差異。百日草採收後的栽培介質中，各處理間的有效性鐵、錳、銅、鋅與硼含量皆無顯著差異，其有效性鐵含量 335–370 mg kg^{-1}，有效性錳含量 93–111 mg kg^{-1}，有效性銅含量 4.2–5.3 mg kg^{-1}，有效性鋅含量 7.4–9.9 mg kg^{-1}，有效性硼含量 2.1–2.7 mg kg^{-1}。

二、市售溶磷菌肥料產品在酸性土壤中對百日草盆栽肥(功)效評估

14 種市售溶磷菌肥料產品及其滅菌後之產品 (載體) 接種在酸性土壤中對百日草地上部生長之影響如表 5，由表 5 中可知，百日草接種 14 種市售溶磷菌肥料產品及其載體對百日草株高無顯著 ($P > 0.05$) 影響。百日草接種溶磷菌肥料商品 4 載體可顯著 ($P < 0.05$) 增加百日草葉數 15.4 葉/株，其他處理則對百日草葉

表 4. 百日草盆栽肥功效評估試驗用鹼性栽培土壤之理化性質分析
Table 4. The analysis of physical-chemical properties of alkaline soil used in fertility evaluation tests by zinnia pot cultures.

Treatment	pH (1：1)	EC (μS cm^{-1})	OM (g kg^{-1})	N (mg kg^{-1})	P (mg kg^{-1})	K (mg kg^{-1})	Ca (mg kg^{-1})	Mg (mg kg^{-1})
Pre-experiment	7.8	304	17	49	276	255	2764	404
After-experiment								
CK	7.7	195	19	9	293	196	2885	377
商品 1	7.7	209	19	10	308	222	3143	411
商品 1 載體 [y]	7.6	225	18	9	292	213	2990	400
商品 2	7.8	234	19	12	320	**248***	**3363***	**451***
商品 2 載體	7.8	224	19	9	296	223	3031	406
商品 3	7.8	212	19	10	299	219	2961	400
商品 3 載體	7.7	230	19	11	287	210	2869	385
商品 4	7.7	210	19	**15***	**337***	**275***	3160	402
商品 4 載體	7.7	265	19	**18***	**340***	**271***	3185	415
商品 5	7.7	230	19	11	285	207	2847	383
商品 5 載體	7.8	203	19	10	309	221	3168	418
商品 6	7.7	229	20	11	299	233	3074	417
商品 6 載體	7.7	205	18	9	295	207	2984	400
商品 7	7.6	199	19	8	316	218	3150	416
商品 7 載體	7.8	224	19	12	299	224	3086	409
商品 8	7.8	168	19	8	292	203	2924	369
商品 8 載體	7.8	182	19	8	293	193	2860	369
商品 9	7.8	206	18	9	314	225	3172	419
商品 9 載體	7.7	227	18	10	305	228	**3249**	427
商品 10	7.6	216	18	9	321	215	3193	416
商品 10 載體	7.8	212	18	7	274	174	2699	345
商品 11	7.8	189	18	9	314	222	3102	406
商品 11 載體	7.8	208	18	6	297	197	2938	386
商品 12	7.8	191	18	10	297	204	2864	370
商品 12 載體	7.8	194	19	12	315	228	3126	406
商品 13	7.8	209	18	9	311	228	3030	396
商品 13 載體	7.8	207	18	11	316	**253***	3077	405
商品 14	7.8	185	19	8	281	206	2886	384
商品 14 載體	7.8	198	19	7	310	227	3151	421
$LSD_{0.05}$	0.2	42	2	5	30	39	364	52

[y] 商品經滅菌處理，對作物生長之效果來自微生物菌劑之載體。
* 與對照組差異達顯著水準 (LSD，P=0.05)。

數無顯著影響。百日草接種 14 種市售溶磷菌肥料產品及其載體無一處理比對照組的花朵數 (7.9 朵) 多，相反地，百日草接種溶磷菌肥料商品 1、商品 3、商品 5、商品 6、商品 8、商品 10 載體、商品 11、商品 12 載體及商品 14，皆可顯著減少百日草花朵數，依序比對照組減少 1.2 朵，2.1 朵，1.2 朵，1.2 朵，1.2 朵，1.4 朵，1.3 朵，1.4 朵與 1.8 朵，其他處理的花朵數與對照組無顯著差異。百日草接種溶磷

表 5. 市售溶磷菌產品在酸性土壤中對百日草生長之影響
Table 5. The influence of commercial phosphate-solubilizing microbial products on the growth of zinnia in acidic soils.

處理	株高 (cm)	葉數 (No.)	花朵數 (No.)	開花數 (No.)	花乾重 (g/plant)	莖葉乾重 (g/plant)	地上部乾重 (g/plant)	地上部乾重相對生長量 (%)
CK	36.7	51.3	7.9	2.3	2.0	7.3	9.3	100
商品 1	36.5	44.1	**6.7***	2.1	1.9	7.0	8.9	95
商品 1 載體 [y]	36.9	43.3	7.5	2.0	1.6	6.5	**8.1***	**87**
商品 2	36.9	48.2	6.9	2.1	1.9	6.7	8.5	92
商品 2 載體	36.6	47.2	7.2	**1.8**	1.6	6.9	8.5	91
商品 3	35.4	39.7	**5.8***	2.1	**1.5***	**5.9***	**7.4***	**79**
商品 3 載體	38.5	49.3	7.0	2.3	1.9	7.4	9.3	100
商品 4	37.3	60.8	7.0	**3.0***	2.4	7.3	9.7	105
商品 4 載體	37.5	**66.7***	7.4	**3.5***	**3.2***	7.5	**10.7***	**115**
商品 5	36.9	45.7	**6.7***	1.9	1.6	6.9	8.4	91
商品 5 載體	38.4	50.0	7.6	2.3	1.9	7.2	9.1	98
商品 6	35.8	45.7	**6.7***	**1.7***	**1.5***	6.4	**8.0***	86
商品 6 載體	38.0	43.8	7.3	2.1	1.7	6.9	8.6	92
商品 7	38.7	55.4	7.8	2.5	1.9	7.1	9.0	96
商品 7 載體	37.7	46.3	7.2	2.3	2.1	7.6	9.6	103
商品 8	38.7	49.4	**6.7***	2.3	2.0	7.7	9.7	104
商品 8 載體	39.0	55.1	7.6	2.5	2.0	7.6	9.6	103
商品 9	37.5	48.1	7.3	2.4	1.9	7.5	9.4	101
商品 9 載體	38.0	54.9	7.7	2.5	2.1	7.3	9.5	102
商品 10	37.3	47.1	7.0	2.4	2.0	7.0	9.1	97
商品 10 載體	36.2	44.0	**6.5***	2.1	2.1	6.5	8.6	92
商品 11	38.3	43.7	**6.6***	2.2	1.9	6.8	8.7	93
商品 11 載體	37.5	51.3	7.1	2.5	1.9	7.3	9.2	99
商品 12	39.1	54.2	7.5	2.7	2.4	7.2	9.6	103
商品 12 載體	37.9	45.8	**6.5***	2.2	2.4	7.2	9.7	104
商品 13	38.7	52.1	7.8	2.7	**2.5***	7.3	9.8	105
商品 13 載體	39.2	55.9	7.7	2.7	**2.5***	8.0	**10.5***	**112**
商品 14	38.4	44.7	**6.1***	2.3	1.7	7.0	8.7	94
商品 14 載體	38.0	47.1	7.1	2.1	2.1	6.8	8.9	95
$LSD_{0.05}$	2.9	7.4	1.2	0.5	0.5	1.0	1.2	

[y] 商品經滅菌處理，對作物生長之效果來自微生物菌劑之載體。
* 與對照組差異達顯著水準 (P=0.05)。

菌肥料商品 4 與商品 4 載體可顯著增加百日草開花數，依序比對照組 (2.3 朵) 增加 0.7 朵與 1.2 朵，百日草接種溶磷菌肥料商品 2 載體與商品 6 可顯著減少百日草開花數，依序減少 0.5 朵與 0.6 朵，其他處理的開花數與對照組無顯著差異。百

日草接種溶磷菌肥料商品 4 載體、商品 13 及商品 13 載體皆可顯著增加百日草花乾重，依序比對照組 (2.0 g/plant) 多 1.2 g/plant，0.5 g/plant，0.5 g/plant，百日草接種溶磷菌肥料商品 3 及商品 6 皆可顯著減少百日草花乾重，依序比對照組減少 0.5 g/plant，0.5 g/plant，其他處理的花乾重與對照組無顯著差異。百日草接種溶磷菌肥料商品 4 載體與商品 13 載體可顯著增加百日草地上部乾重，依序比對照組 (9.3 g/plant) 多 1.2 g/plant，1.4 g/plant，百日草接種溶磷菌肥料商品 1 載體、商品 3 及商品 6 可顯著減少百日草地上部乾重,依序比對照組減少 1.2 g/plant,1.9 g/plant 及 1.3 g/plant，其他處理則對百日草地上部乾重無顯著影響。

14 種市售溶磷菌肥料產品及其載體接種在酸性土壤中對百日草地上部營養元素吸收之影響如表 6，由表 6 中可知，百日草接種溶磷菌肥料商品 4、商品 4 載體、商品 8 及商品 13 載體可顯著增加百日草地上部氮含量，依序比對照組(1.78 g/plant)增加 0.26 g/plant 、0.39 g/plant、0.16 g/plant 及 0.16 g/plant，而接種溶磷菌肥料商品 1 載體、商品 3 及商品 6 可顯著減少百日草地上部氮含量,依序減少 0.20 g/plant 、0.34 g/plant 及 0.21g/plant，其他處理則對百日草地上部氮含量無顯著影響。百日草接種溶磷菌肥料商品 4 載體可顯著增加百日草地上部磷含量 23 mg/plant (增加 20%),而接種溶磷菌肥料商品 1 載體與商品 3 皆可顯著減少百日草地上部磷含量,依序比對照組 (117 g/plant) 減少 18 g/plant,29 g/plant,20 g/plant，20 g/plant，其他處理與對照組無顯著差異。百日草接種溶磷菌肥料商品 4 載體可顯著增加百日草地上部鉀含量 0.46 g/plant，而接種溶磷菌肥料商品 2、商品 2 載體、商品 3、商品 5、商品 6 及商品 10 載體皆可顯著減少百日草地上部鉀含量，依序比對照組 (2.00 g/plant) 減少 0.39 g/plant,0.37 g/plant,0.5 g/plant,0.33 g/plant，0.37 g/plant,0.23 g/plant，其他處理與對照組無顯著差異。百日草接種溶磷菌肥料商品 3 載體、商品 4 載體及商品 5 載體可顯著增加百日草地上部鈣含量,依序比對照組 (614 mg/plant) 增加 147 mg/plant、124 mg/plant 及 133 mg/plant，其他處理則對百日草地上部鈣含量無顯著影響。百日草接種溶磷菌肥料商品 2、商品 3 及商品 6 可顯著減少百日草地上部鎂含量，依序比對照組 (313 mg/plant) 減少 57 mg/plant、88 mg/plant 及 58 mg/plant，其他處理則對百日草地上部鎂含量無顯著影響。

表 6. 酸性土壤中市售溶磷菌產品接種對百日草地上部營養吸收之影響

Table 6. The influence of commercial phosphate-solubilizing microbial products on the nutrient absorption and crop fresh weight of zinnia in acidic soils.

處理	N 吸收量 (g/plant)	P 吸收量 (mg/plant)	K 吸收量 (g/plant)	Ca 吸收量 (mg/plant)	Mg 吸收量 (mg/plant)	磷相對吸收量 (%)
CK	1.78	117	2.00	614	313	100
商品 1	1.77	111	1.91	634	302	95
商品 1 載體 [y]	1.59	99	1.85	558	273	85
商品 2	1.70	108	1.61	662	256	92
商品 2 載體	1.69	108	1.63	676	273	92
商品 3	1.45	88	1.50	560	225	75
商品 3 載體	1.80	118	1.87	761	320	101
商品 4	2.04	125	1.98	704	279	107
商品 4 載體	2.17	140	2.46	738	319	120
商品 5	1.70	103	1.67	618	257	88
商品 5 載體	1.78	121	1.81	747	313	103
商品 6	1.57	104	1.63	605	254	89
商品 6 載體	1.66	111	1.86	572	288	95
商品 7	1.83	114	1.94	548	286	97
商品 7 載體	1.93	114	1.88	702	302	97
商品 8	1.95	117	2.01	610	323	100
商品 8 載體	1.88	129	2.06	604	322	110
商品 9	1.79	112	1.89	651	327	96
商品 9 載體	1.75	117	1.93	643	319	100
商品 10	1.73	106	1.90	589	291	91
商品 10 載體	1.72	111	1.77	557	282	95
商品 11	1.70	111	1.89	575	290	95
商品 11 載體	1.83	119	1.99	611	312	102
商品 12	1.92	130	2.10	653	320	111
商品 12 載體	1.86	117	2.01	652	300	100
商品 13	1.84	126	2.07	624	309	108
商品 13 載體	1.95	131	2.09	696	351	112
商品 14	1.67	104	1.84	585	282	89
商品 14 載體	1.70	106	1.86	584	288	91
$LSD_{0.05}$	0.15	18	0.22	122	57	

[y] 商品經滅菌處理，對作物生長之效果來自微生物菌劑之載體。

* 與對照組差異達顯著水準 (P=0.05)。

百日草盆栽肥(功)效評估試驗用酸性土壤之理化性質分析如表 7，由表 7 中可知，試驗前百日草栽培土壤之 pH 為 4.9，EC 值 65 μS cm^{-1}，有機質含量 15 g kg^{-1}，無機態氮含量 10 mg kg^{-1}，有效性磷含量 46 mg kg^{-1}，有效性鉀含量 39 mg kg^{-1}，有效性鈣含量 109 mg kg^{-1}，有效性鎂含量 13 mg kg^{-1}。百日草採收後，土壤 pH 值為 4.6，比試驗前低 0.3。百日草澆灌商品 5、商品 6、商品 6 載體及商品 13 之栽培

表 7. 百日草盆栽肥功效評估試驗用酸性栽培土壤之理化性質分析

Table 7. The analysis of physical-chemical properties of acidic soil used in fertility evaluation tests by zinnia pot cultures.

Treatment	pH (1：1)	EC (μS cm^{-1})	OM (g kg^{-1})	N (mg kg^{-1})	P (mg kg^{-1})	K (mg kg^{-1})	Ca (mg kg^{-1})	Mg (mg kg^{-1})
Pre-experiment	4.9	65	15.0	10	46	39	109	13
After-experiment								
CK	4.6	264	14.7	29	65	73	354	56
商品 1	4.6	277	15.4	29	71	78	381	58
商品 1 載體 [y]	4.6	300	**15.8***	29	**75***	78	405	64
商品 2	4.6	270	15.0	27	68	76	388	60
商品 2 載體	4.6	264	15.7	24	64	69	343	55
商品 3	4.6	272	15.5	33	71	73	321	53
商品 3 載體	4.6	279	15.1	27	69	79	407	64
商品 4	4.7	290	**15.7***	**50***	**91***	**98***	399	61
商品 4 載體	4.6	252	15.5	**41***	**88***	**93***	355	53
商品 5	**4.8***	257	15.6	31	66	63	293	49
商品 5 載體	4.6	239	15.0	25	68	65	317	50
商品 6	**4.8***	259	**15.8***	25	72	77	340	55
商品 6 載體	**4.9***	251	15.5	29	60	67	304	49
商品 7	4.6	244	15.2	24	65	62	287	**47***
商品 7 載體	4.7	262	15.6	28	61	70	322	50
商品 8	4.7	254	**15.7***	24	73	74	340	52
商品 8 載體	4.6	233	15.2	**19***	73	**58***	**300***	**47***
商品 9	4.6	263	15.3	23	65	69	321	51
商品 9 載體	4.7	251	15.1	23	62	67	323	50
商品 10	4.6	293	15.1	34	68	61	302	49
商品 10 載體	4.6	263	15.5	29	61	**60***	**274***	**44***
商品 11	4.6	257	15.3	27	64	69	312	50
商品 11 載體	4.6	245	15.4	22	58	**57***	**283***	**46***
商品 12	4.7	229	15.4	27	59	65	299	48
商品 12 載體	4.7	242	15.0	34	69	73	348	54
商品 13	**4.9***	220	15.3	23	67	70	307	49
商品 13 載體	4.7	253	15.1	25	70	77	365	57
商品 14	4.6	248	14.9	29	64	63	329	50
商品 14 載體	4.6	233	15.3	24	65	64	341	55
$LSD_{0.05}$	0.2	49	1.0	8	10	13	63	9

[y] 商品經滅菌處理，對作物生長之效果來自微生物菌劑之載體。

* 與對照組差異達顯著水準 (P=0.05)。

土壤其 pH 值皆顯著提高，依序提高 0.2、0.2、0.3、0.3。各處理之百日草栽培土壤其 EC 值無顯著差異。百日草澆灌商品 1 載體、商品 4、商品 6 及商品 8 之栽培土壤其有機質含量皆顯著提高，依序比對照組 (14.7 g kg^{-1}) 提高 1.1 g kg^{-1}、1.0 g kg^{-1}、1.1 g kg^{-1}、1.0 g kg^{-1}。百日草澆灌商品 4 與商品 4 載體其栽培土壤中無機態氮含量皆顯著提高，依序比對照組 (29 mg kg^{-1}) 提高 21 mg kg^{-1}、41 mg kg^{-1}，而澆灌商品 8 載體則顯著降低栽培介質中無機態氮含量 10 mg kg^{-1}。百日草澆灌商品 1 載體、商品 4 及商品 4 載體之栽培土壤其有效性磷含量顯著提高，依序比對照組 (65 mg kg^{-1}) 提高 10 mg kg^{-1}、26 mg kg^{-1}、23mg kg^{-1}。百日草澆灌商品 4 與商品 4 載體之栽培土壤其有效性鉀含量顯著提高，依序比對照組 (73 mg kg^{-1}) 提高 25 mg kg^{-1}、20 mg kg^{-1}，而澆灌商品 8 載體、商品 10 載體及商品 11 載體之栽培土壤其有效性鉀含量皆顯著下降，依序比對照組減少 15 mg kg^{-1}、13 mg kg^{-1}、16 mg kg^{-1}。百日草澆灌商品 7、商品 10 載體及商品 11 載體之栽培土壤其有效性鈣含量皆顯著下降，依序比對照組 (354 mg kg^{-1}) 減少 67 mg kg^{-1}、80 mg kg^{-1}、71 mg kg^{-1}。百日草澆灌商品 7、商品 8 載體、商品 10 載體及商品 11 載體之栽培土壤其有效性鎂含量皆顯著下降，依序比對照組 (56 mg kg^{-1}) 減少 9 mg kg^{-1}、9 mg kg^{-1}、12 mg kg^{-1}、10 mg kg^{-1}。百日草採收後的栽培介質中，各處理間的有效性鐵、錳、銅、鋅與硼含量皆無顯著差異，其有效性鐵含量 93–129 mg kg^{-1}，有效性錳含量 5–7 mg kg^{-1}，有效性銅含量 1.1–1.4 mg kg^{-1}，有效性鋅含量 1.1–1.5 mg kg^{-1}，有效性硼含量 0.2–0.3 mg kg^{-1}。

由上述試驗結果可知，在鹼性土壤中，接種溶磷菌肥料產品 4 可增加百日草開花數 0.9 朵，及增加地上部磷吸收量 58%，而其載體亦可增加百日草開花數 0.9 朵及增加地上部磷吸收量 43%，由上述結果顯示，溶磷菌肥料產品 4 之菌體可增加百日草地上部磷吸收量 15%。接種溶磷菌肥料產品 10 對百日草開花數沒有影響，但可增加地上部乾重 13%及增加地上部磷吸收量 24%，而其載體可增加百日草開花數 0.5 朵、地上部乾重 15%及地上部磷吸收量 31%，由上述結果顯示，溶磷菌肥料產品 10 之菌體對百日草開花數、地上部乾重及磷吸收量無促進效果。其他 12 種溶磷菌肥料產品對百日草開花數、地上部乾重及磷吸收量無顯著促進效果。

在酸性土壤中，接種溶磷菌肥料產品 4 可增加百日草開花數 0.7 朵及增加地上部乾重 5%，但對磷的吸收量沒有增加效果，而其載體可增加百日草開花數 1.2 朵、地上部乾重 15%及增加磷吸收量 17%，由上述結果顯示，溶磷菌肥料產品 4 之菌

體在酸性土壤中對百日草開花數、地上部乾重及磷吸收量無促進效果。接種溶磷菌肥料產品 13 可增加地上部乾重 5%及地上部磷吸收量 8%，而其載體可增加百日草地上部乾重 12%及地上部磷吸收量 8%，由上述結果顯示，溶磷菌肥料產品 13 之菌體在酸性土壤中對百日草開花數、地上部乾重及磷吸收量無促進效果。其他 12 種溶磷菌肥料產品對百日草開花數、地上部乾重及磷吸收量皆無顯著促進效果。

引用文獻

1. Gray, C. W., R. G. McLaren, A. H. C. Roberts, and L. M. Condron. 1999. The effect of long-term phosphatic fertilizer applications on the amounts and forms of cadmium in soils under pasture in New Zealand. Nutr. Cycl. Agroecosys. 54: 267-277.
2. Osztoics, E., P. Csatho´, T. Ne´meth, Gy. Baczo´, M. Magyar, and L. Radimszky. 2005. Influence of Phosphate Fertilizer Sources and Soil Properties on Trace Element Concentrations of Red Clover. Commun. Soil Sci. Plant Analysis. 36: 557–570.
3. Atafar, Z., A. Mesdaghinia, J. Nouri, M. Homaee, M. Yunesian, M. Ahmadimoghaddam, and A. H. Mahvi. 2010. Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. Environ. Monit. Assess. 160: 83–89.
4. Czarnecki, S. and R. A. Düring. 2015. Influence of long-term mineral fertilization on metal contents and properties of soil samples taken from different locations in Hesse, Germany. Soil 1: 23-33.
5. Brockwell, J. and P. J. Bottomley. 1995. Recent advances in inoculant technology and prospects for the future. Soil Biol. Biochem. 27:683–697.

Fertility Efficacy Evaluation of Commercial Phosphate-solubilizing Biofertilizers

Su-Chen Lin[1,*] and Shu-Jing Yan [2]

Summary

Biofertilizers often showed unstable responses in field trials with two extremes, i.e., effective and non-effective. This experience gave farmers weak confidence in biofertilizers. From 2017, commercial phosphate-solubilizing biofertilizers (PSB) were purchased and evaluated their growth efficacy by pot culture (*Zinnia angustifolia*) in Taiwan Agricultural Research Institute (TARI). The test soils were red soils and calcareous soils. Totally, 14 phosphate-solubilizing biofertilizer products and their carriers were evaluated in this report. The test results conducted in calcareous soil indicated that inoculation of PSB #4 could increase 0.9 flower number and 58% phosphate absorption to the upper ground biomass. Besides, the carrier of PSB #4 could increase 0.9 flower number and 43% phosphate absorption to the upper ground biomass as well. Inoculation with PSB #10 had no influence to flower number, but could increase 13% dry weight and phosphate absorption 24% to the upper ground portion. However, the carrier of PSB #10 could increase 0.5 flower number, 15% dry weight and phosphate absorption 31% to the upper ground portion. The other 12 products did not exhibit significant growth effect. The test results conducted in red soils indicated that inoculation of PSB #4 could increase 0.7 flower number and 5% dry weight to the upper ground biomass; however there was no effect in phosphate absorption. The carrier of

---

[*] Corresponding author, e-mail: linmay@tari.gov.tw

[1] Assistant Researcher, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[2] Research Assistant, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

PSB #4 could increase 1.2 flower number, 14% dry weight and 17% phosphate absorption to the upper ground biomass. Inoculation with PSB #13 had no influence to flower number, but could increase 5% dry weight and phosphate absorption 8% to the upper ground portion. However, the carrier of PSB #13 could increase 12% dry weight and phosphate absorption 8% to the upper ground biomass. The other 12 products did not show any significant growth effect.

Keywords: Phosphate-solubilizing bacteria, Fertility efficacy evaluation

利用日日春及小胡瓜作為溶磷菌肥效評估可行性研究

倪禮豐[1,*]

摘要

國內目前微生物肥料尚無肥料效果及活性指標規範。以盆栽日日春為指標作物之肥效試驗，結果顯示二種市售溶磷菌皆無促進植物磷肥吸收之淨效益。無論有無滅菌之菌劑，皆會降低土壤之 pH 值，並同時稍降低土壤磷濃度。日日春是否能真實反應微生物之肥效仍待觀察。小胡瓜之肥效田間試驗，結果顯示商品 A 溶磷菌無促進植物磷肥吸收之淨效益，其中滅菌處理，甚至對植株有顯著負面影響，推測或許與其成分中含尿素較高，經加熱產生縮二脲酸對植株造成的毒害。商品 B 處理之小胡瓜產量與全量化肥處理之相當，經滅菌處理則與對照相當，顯示此商品確有肥效。

關鍵詞：溶磷菌、日日春、小胡瓜。

前言

國內目前微生物肥料登記時得免附肥料效果試驗報告，且無定量的活性指標規範，微生物肥料商品在田間施用時，常出現有效與無效兩極化之反應，使得農民對微生物肥料缺乏信心。部分微生物農藥登記為微生物肥料上市販售，造成微生物農藥管理困擾，而農民在認知不清的情況下，施用未經政府把關且有殺菌或殺蟲功效的微生物，不僅徒增施用成本，亦有生態與環境安全之隱憂。本研究以日日春盆栽試驗及小胡瓜田間試驗驗證溶磷菌肥料肥功效期可提升溶磷菌肥料商品品質，保障農民的權益，維護環境生態安全。

---

[*] 通訊作者：lifengn@hdares.gov.tw

[1] 農委會花蓮區農業改良場助理研究員。台灣 花蓮縣。

材料與方法

一、日日春盆栽試驗

(一) 供試土壤基本資料

土壤來源	座標		pH	Bray I 磷
	N	E	(1:1)	(mg/kg)
花蓮縣瑞穗鄉高磷區	23.493874	121.382465	5.9	175
花蓮縣壽豐鄉吳全中磷區	23.892262	121.552477	7.8	69
花蓮縣壽豐鄉樹湖低磷區	23.838655	121.488119	8.1	38

(二) 溶磷菌肥料種類

1. 菌劑一：弘裕好收成系列-磷菌肥 (粉狀)。
2. 菌劑二：興農牌善玉肥 1 號 (液狀)。
3. 菌劑一及二之基質：菌劑一 100 g 先以 200 mL 去離子水分散後，菌劑二則直接，經滅菌釜高壓滅菌 (121℃，20min)。

(三) 試驗設計

RCBD，選取生育相近之植株為同一區集，4 重複，

處理一(A)：菌劑 1+施肥

處理二(B)：菌劑 2+施肥

處理三(C)：菌劑 1 基質+施肥

處理四(D)：菌劑 2 基質+施肥

處理五(E)：施肥

(四) 栽培管理

1. 日日春種子預先以泥炭育苗，選取生育相近之植株定植於 6 吋塑膠盆，每盆乾土量 1.5 kg。
2. 基肥及每週追肥為硝酸鉀 0.052 g 及尿素 0.028 g，定植後連續施用至花苞出現 (第 5 週)，開始溶磷菌處理。
3. 溶磷菌處理，每 7 天施用 1 次，施用 3 次。A-D 處理稀釋 500 倍，每盆 50 ml 澆灌，E 處理則以等量水為之。

4. 定期測量株高、莖徑、分枝數、花數、最大葉長、葉寬等。

(五) 土壤分析

酸鹼度以玻璃電極法測定，水土比為 1:1；導電度：以導電度計測定，水土比為 1:5；土壤有效磷以 Bray I 抽出，鉬藍法測定之。

(六) 植體分析

將植株分根、莖 (含葉柄) 及葉 (含花)，分別稱鮮重、50℃烘乾，稱乾重；全量磨粉，以濃硫酸分解，植體磷以鉬黃法測定之。

二、小胡瓜田間試驗

(一) 試驗地點：花蓮縣壽豐鄉 (石灰母質鹼性土壤)

(二) 試驗作物：小胡瓜

(三) 供試商品：二種中鹼性土壤適用之溶磷菌商品 (萬磷丹代號 A 及博士肥代號 B)

(四) 試驗設計

RCBD，9 處理 3 重複，小區面積 30 平方公尺，各處理如下：

1. 不施肥對照 (BK)
2. 全量施肥對照 (CK)
3. 減磷肥對照 (CK-)
4. 接種 A 菌 (A+)
5. 接種 B 菌 (B+)
6. A 商品無菌基質對照 (CKA)
7. B 商品無菌基質對照 (CKB)
8. A 商品滅菌對照 (A-)
9. B 商品滅菌對照 (B-)

(五) 調查項目

定期做生育調查，採收時檢測植株之鮮重、乾重與營養元素含量。測定試驗前後土壤酸鹼度、電導度、有效磷含量等理化性質。處理後 7 天追蹤作物根圈溶磷菌菌落數。

結果與討論

一、日日春盆栽試驗

於 106 年 7 月 28 日播種，發芽率約 85%。於 8 月 11 日選取生育狀況相近植株定植，並開始施肥處理。觀察植株生育情形，於 9 月 12 日約半數植株出現花苞，依株植生育情形分為 4 區集，開始施用溶磷菌 3 次。於最後一次溶磷菌處理後一週後 (10 月 3 日) 收穫。

不同土壤之植株生育差異極大，以瑞穗土壤較佳，可能因壽豐土壤為鹼性 (pH 7.8 及 8.1)，不利於日日春生長 (圖 1)。故後續結果以瑞穗土壤者為主討論。

瑞穗土壤試驗結果顯示，無論株高、莖徑、根長、及根莖葉之鮮、乾重，皆以處理 E (對照) 最高。磷之總吸收量，亦以處理 E 顯著高於其他處理 (圖 2)。二種微生物商品皆無促進植物磷肥吸收之淨效益，即 A-C 與 B-D 小於或等於 0，而且與對照組 E 處理相比，皆相差甚大。

圖 1. 106 年盆栽試驗不同土壤栽培之日日春生長情形 (左壽豐，右瑞穗)

試後土壤分析結果與植體分析結果相符，對照組之 pH 值 (圖 3) 及 BrayI 磷濃度 (圖 4) 皆較其他 4 處理為高，顯示無論有無滅菌之菌劑，皆會降低土壤之 pH 值，並同時稍降低土壤磷濃度 (差異不顯著)。

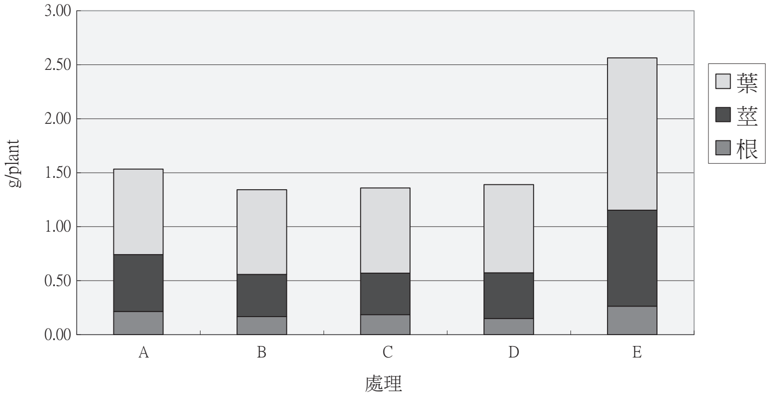


圖 2. 106 年盆栽試驗各處理日日春之總磷吸收量

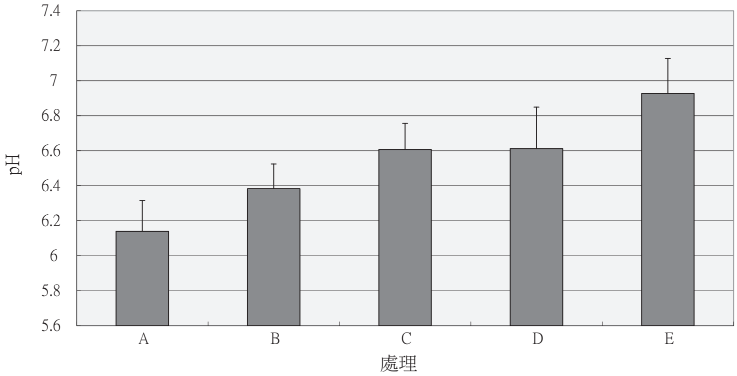


圖 3. 106 年盆栽試驗瑞穗土壤試後 pH 值

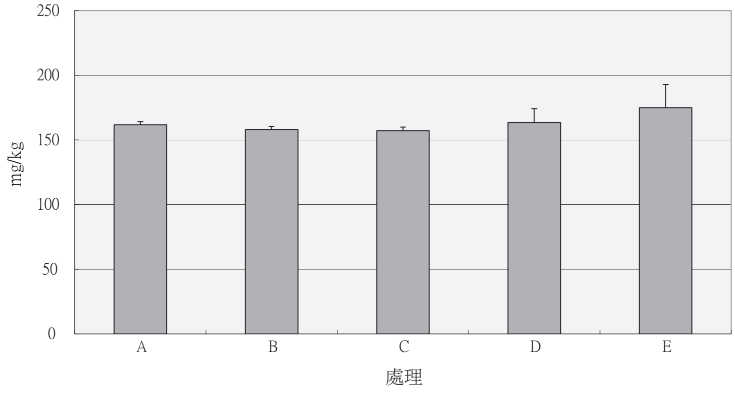


圖 4. 106 年盆栽試驗瑞穗土壤試後有效磷 (Bray I) 濃度

二、小胡瓜田間試驗

於 107 年 3 月 28 日基肥處理，4 月 11 日小胡瓜定植，分別於 4 月 18 日及 5 月 9 日微生物肥料處理。

產量調查由 5 月 18 日開始，至 5 月 28 日結束，共採取 11 天之產量數據。結果顯示公頃產量以全量化肥對照之 80.2 噸最高，商品 B 之 79.1 噸次之，商品 A 滅菌處理之 14.1 噸最低，餘各處理之產量介於 50-70 噸之間。

商品A處理對小胡瓜生育及產量並無正面效益，而商品A滅菌處理後會甚至顯著抑制小胡瓜苗期生長，並導致產量大幅降低 (圖 5)。原因推斷可能是商品中尿素態氮較高，高溫滅菌時產生二縮脲等有害成分所導致。

商品B處理之小胡瓜產量與全量化肥處理之相當，經滅菌處理則與對照相當，顯示此商品確有肥效 (圖 6)。

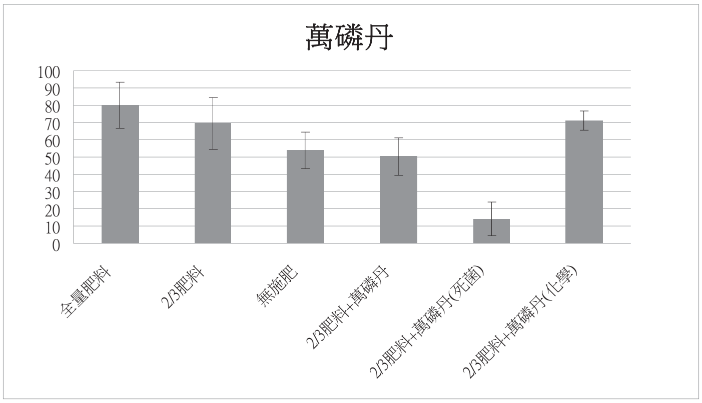


圖 5. 107 年溶磷菌商品 A 田間試驗小胡瓜單位面積產量 (噸/公頃)

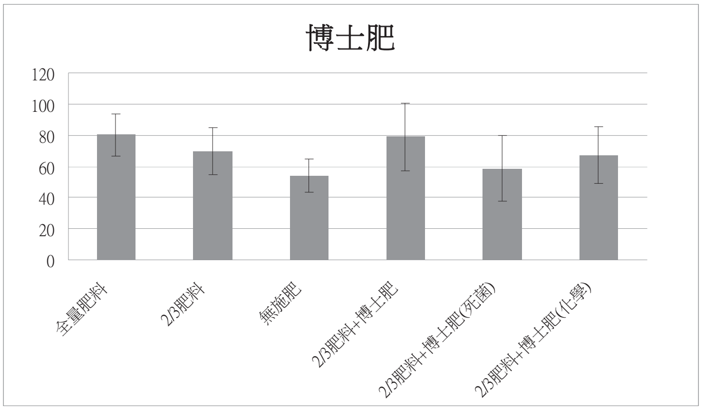


圖 6. 107 年溶磷菌商品 B 田間試驗小胡瓜單位面積產量 (噸/公頃)

結論與建議

一、日日春耐高溫，栽培期短，適合盆栽栽培，可能可以作為夏季肥效試驗之指標作物。但其土壤適應性仍待觀察，若土壤的適栽範圍太狹窄，土壤的其他性質，如酸鹼度會將肥效掩蓋，無法真實反應微生物之肥效。

二、由試驗結果發現，除 107 年田間試驗中商品 B 之外，餘各商品在促進作物生長及磷吸收量方面，幾無正面效益，故建議未來或可增加評估項目，例如害物之降低程度等，才能完整呈現微生物肥料之價值。

引用文獻

1. 李俊、沈德龙。2012。微生物肥料田间试验设计与效果评价。农业部微生物肥料和食用菌菌种质量监督检验测试中心。全国农技推广网。
2. 許景鋼、孫濤、李嵩。2016。我國微生物肥料的研發及其在農業生產中的應用。作物雜誌：1-6。
3. Catroux, G., A. Hartmann, and C. Revellin. 2001. Trends in rhizobial inoculant production and use. Plant Soil 230:21–30.
4. Deaker R., M. L. Kecskés, M. T. Rose, K. Amprayn, G. Krishnen, T.T. K. Cuc, V. T. Nga, P. T. Cong, N. T. Hien, and I. R. Kennedy. 2011. Practical methods for the quality control of inoculant biofertilisers. Australian Center for International Agricultural Research.
5. Ghosh T. K., R. P. Singh, J. S. Duhan, and D. S. Yadav. 2001. A review on quality control of biofertilizer in India. Fertiliser Marketing News 31:1-9.
6. Herrmann, L. and D. Lesueur. 2013 Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 97:8859–8873.
7. Suh et al., 2006. Quality control of biofertilizers. Biofertilizer Manual. Published by Japan Atomic Industrial Forum (JAIF).

The Assessment of Phosphate-Solubilizing Microbial Fertilizer by Periwinkle and Cucumber

Li-Feng Ni [1,*]

Summary

In Taiwan, it is not necessary to submit an experiment report of fertilizer effect whenever application for registration of microbial fertilizer is needed. Furthermore, there is no regulation for the quantitative test of viable indicators. The result of periwinkle pot test showed that the treatments of these two commercial PSM (phosphate-solubilizing microbial) present non positive effects to the plant growth and phosphate uptake. Whatever sterilized or not, two goods could reduce the pH and Bray I phosphate concentration of the test soil. was completed. The result of the cucumber field trials showed that PSA treatment present non positive effects to the plant growth and yields. In addition to, PSA fertilizer present minus effects significantly, caused by the toxicity from biuret, generated from heating, speculatively. On the other hand, PSB present positive effect to the plant growth and yield, showed that PSB is a effective product.

Keywords: Phosphate-Solubilizing Bacteria, *Catharanthus roseus*, *Cucumis sativus*.

[*] Corresponding author, e-mail: lifengn@hdares.gov.tw

[1] Assistant Researcher, Hualien District Agricultural Research and Extension Station , Hualien, Taiwan, ROC.

溶磷菌在不同磷含量土壤中對小米生長之效應

黃文益[1,*]、張繼中[2]

摘要

為測試溶磷菌肥 (功) 效在田間的應用，本場選擇臺東地區代表性作物小米，進行溶磷菌在不同磷含量的土壤對小米生長的效應，結果顯示以處理一 (溶磷菌有機肥) 的產量在低及中磷試區與對照有顯著差異，如單純施用液態溶磷菌則在各區均無顯著差異，綜合施肥法以液態溶磷菌為基礎，深入根系施用，與對照有差異，惟可能缺乏能長久維持溶磷菌生存的有機質及養分，因此效益不顯著；綜上試驗顯示參與本試驗之市售二款溶磷菌在小米生長的效應方面高磷區因不缺肥，溶磷菌較無法發揮效益，在中低磷區，因各項養分均不高，因此溶磷菌有機肥得以發揮效用。

關鍵字：溶磷菌、小米、土壤肥力、臺東地區。

前言

為測試國內目前微生物肥料在田間應用功效，農試所於 106 年提出 「生物性肥料肥 (功) 效評估及驗證」 計畫，以確保微生物肥料商品品質，保障農民權益，各改良試驗場所除協同試驗外，亦將試驗微生物肥料、化學肥料與有機質肥料等整合性施肥技術，以提供農民施肥參考。溶磷菌為目前登記數量最多之微生物肥料商品，故先測試溶磷菌之肥 (功) 效，又土壤肥力會影響作物的生長表現，因此於第一年試驗場所分別選擇土壤有效磷含量低、中及高三等級的土壤。小米為臺東地區栽培歷史悠久之特色作物，佔全國總產量 5 成，又因小米多種植於部

[*] 通訊作者：hwi@mail.ttdares.gov.tw
[1] 農委會臺東區農業改良場助理研究員。台灣。台東市。
[2] 農委會臺東區農業改良場副研究員。台灣。台東市。

落畸零地，原住民農友多採粗放栽培產量不高，如能整合有機質肥料、微生物肥料及化學肥料之施用，而提供農友綜合性施肥法，將有助於提升小米產量及品質。

材料與方法

一、試驗地點基本資料

	試區面積	有效性磷 (mg / kg)	作物種類	地點
低磷區	30 m × 30 m (小區 30 m^2)	29.2	小米	臺東縣金峰鄉
中磷區	30 m × 30 m (小區 30 m^2)	46.3	小米	臺東縣金峰鄉
高磷區	30 m × 24 m (小區 30 m^2)	174.6	小米	臺東縣金峰鄉
整合性施肥法 (中磷區)	25 m × 24 m (小區 30 m^2)	46.3	小米	臺東縣金峰鄉

二、溶磷菌肥料種類

1. 菌劑一：溶磷菌商品 1 號，原料：溶磷菌 (*Bacillus licheniformis*，地衣芽孢桿菌) 、黃豆粉、花生粕、菜籽粕、芝麻粕、米糠、海草粉；全氮：5.7 %、全磷酐：2.0 %、全氧化鉀：2.0 % (粒狀)
2. 菌劑二：溶磷菌商品 2 號，原料：溶磷菌 (*Bacillus licheniformis*) (台灣物種編號 110246) 、NB 培養基、酵母粉、糖蜜、水、竹醋液。 (液狀)
3. 菌劑一基質：經滅菌釜高壓滅菌 (121℃，20 min，放冷，再滅菌，共滅菌 3 次) ，確認樣品達到滅菌要求後，供試驗用。
4. 菌劑二基質：經滅菌釜高壓滅菌 (121℃，20 min，放冷，再滅菌，共滅菌 3 次) ，確認樣品達到滅菌要求後，供試驗用。

三、試驗設計處理

(一) 高、中及低磷試驗

1. 處理一 (A)：菌劑 1+施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)
2. 處理二 (B)：菌劑 2+施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)
3. 處理三 (C)：菌劑 1 基質+施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)

4. 處理四 (D)：菌劑 2 基質+施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)
5. 處理五 (E)：施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)
6. 處理六 (F)：不施肥

(二) 整合性施肥試驗 (於中磷地一併進行試驗)

包括肥料種類、施用時間、施用量與施用位置等，由於肥料種類為溶磷菌，施用量依據標示用量稀釋，因此在本試驗針對不同施用時間及施用位置作為處理，以 RCBD (逢機完全區集設計) 設置溶磷菌施肥試驗區。試驗植株每棵以溶磷菌於生長初期及中期分次澆灌，每株 200 mL。

•處理一：菌劑 (種植後 15 d、30 d)、表層澆灌
•處理二：菌劑 (種植後 30 d、45 d)、表層澆灌
•處理三：菌劑 (種植後 15 d、30 d)、土下 5 cm 灌施
•處理四：菌劑 (種植後 30 d、45 d)、土下 5 cm 灌施
•處理五：不施菌劑。

RCBD，各 4 重複

四、化學肥料及溶磷菌肥料施用量與施用方式

1. 依據作物施肥手冊 (中華肥料協會 2005) 做為施肥之推薦用量，肥料種類為硫酸銨、過磷酸鈣及氯化鉀，依各試區之面積換算，施用量如下表：

	試區面積	硫酸銨 (Kg)	氯化鉀 (Kg)	過磷酸鈣 (Kg)
低磷區 (處理 1~5)	900 m^2	42.9	11.3	28.1
低磷區 (處理 6)	900 m^2	42.9	11.3	0
中磷區 (處理 1~5)	900 m^2	42.9	11.3	18.8
中磷區 (處理 6)	900 m^2	42.9	11.3	0
高磷區 (處理 1~5)	720 m^2	34.3	9.0	0

2. 溶磷菌肥料之施用量如下：

(1) 菌劑 1：原液稀釋 400 倍，澆灌於小米幼苗兩側，距離幼苗 3-8 cm 處，施用量為溶磷菌稀釋液 20 L / 小區。

(2)菌劑 2：根據產品推薦用量每分地 20 kg 換算每試區之施用量，施用量為 600 g / 小區，均勻施用於小米兩側，距離幼苗 5-10 cm 處。

五、分析方法

(一) 土壤性質分析

1. 酸鹼度：玻璃電極法測定，水土比為 1:1。
2. 導電度：以導電度計測定，水土比為 1:5。
3. 有機質含量：以元素分析儀測定。
4. 磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅：以孟立克 3 號萃取法萃取，以 ICP 測定之。

結果與討論

一、產量及生長勢調查

在低土壤有效性磷含量試區 (表 1) 及中土壤有效性磷含量試區 (表 2) ，處理一的乾重產量均顯著高於對照處理六，處理一為市售溶磷菌有機肥，含全氮：5.7%、全磷酐：2.0%、全氧化鉀：2.0%及大量的有機質，能提供作物充足的養分，再加上內含溶磷菌二者相輔相成而使產量大幅提升；處理三為處理一的菌劑 1 經 3 次高溫高壓滅菌後剩餘的養分基質，在乾重產量上為第二高，僅次於處理一，雖統計上未達顯著但亦有提升產量的功效，其促進產量的原因應該為提供小米氮磷鉀養分；處理二為市售菌劑 2，為液態溶磷菌肥，由表 1 可得知其乾重產量為第三高，惟與對照亦無顯著差異，而處理四為菌液 2 滅菌後的基質，其產量反而是所有產量中最低的，但與對照無顯著差異，其株高及穗長亦是最低，處理四基質為 NB 培養基、酵母粉、糖蜜、水、竹醋液等對作物生長應無抑制的效果，應該為田間環境的影響。由表 1 及表 2 的各個處理可知提高小米產量成效最高的為溶磷菌有機肥，其次為滅菌的溶磷菌有機肥，再次為液態溶磷菌。在土壤有效性磷高含量處理區其產量則與對照均無顯著差異，由於高磷區土壤各養分均充足，因此各式溶磷菌肥均無法有效發揮功效。

表 1. 土壤有效性磷低含量處理區產量及生長勢

低磷	鮮重	乾重	穗長	株高
	-------------kg / ha-------------		---------cm---------	
處理一	880.6a	690.9a	7.3a	38.7a
處理二	607.9ab	445.5ab	5.7ab	30.2bc
處理三	767.0ab	536.6ab	6.2ab	37.4ab
處理四	466.0b	341.1b	5.0b	29.4c
處理五	544.0ab	389.3b	5.0b	29.6c
處理六	510.9ab	375.1b	5.4ab	30.0bc

表 2. 土壤有效性遴中含量處理區產量及生長勢

中磷	鮮重	乾重	穗長	株高
	-------------kg / ha-------------		---------cm---------	
處理一	1805.8 a	1354.3 a	21.3 a	69.2 a
處理二	1339.6 ab	1004.7 ab	21.6 a	58.8 ab
處理三	1188.8 ab	891.6 ab	21.9 a	66.1 a
處理四	1231.6 ab	923.7 ab	21.1 a	63.5 ab
處理五	1086.0 b	814.5 b	19.8 a	53.7 b
處理六	1059.0 b	794.3 b	17.8 a	58.2 ab

表 3. 土壤有效性遴高含量處理區產量及生長勢

高磷	鮮重	乾重	穗長	株高
	----------------- kg / ha -----------------		--------- cm ---------	
處理一	2420.9a	1923.9a	18.0a	105.0a
處理二	2157.1a	1521.6a	17.1a	102.9a
處理三	2605.8a	2010.2a	17.4a	111.3a
處理四	2239.1a	1948.6a	15.9a	106.6a
處理五	2417.1a	1868.5a	17.4a	111.7a

二、葉片元素含量分析

在葉片元素含量分析上，由表 4 可知在低磷區，處理一葉片氮含量顯著高於對照處理六，本試驗為檢測溶磷菌肥 (功) 效，而顯著差異卻在植體氮含量，可得知其提升產量的主要原因非為溶磷菌的功效，實則為基質所提供的養分在促進小米生長，植體氮含量第二高為處理三，為滅菌後的菌劑一，在植體磷含量上亦為處理一最高，惟與對照未達顯著差異。在中磷區 (表 5) 及高磷區 (表 6) ，各處理與對照在各植體元素分析數值上均無顯著差異，顯示在這些區域土壤養分較充裕，植體生長所需的養分均較充足。

表 4. 土壤有效性遴低含量處理區葉片元素含量

低磷	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe	Cu
	---------------------- % ----------------------					----------------- mg/kg -----------------			
處理一	1.61a	0.24a	2.10ab	0.78a	1.15a	3.2a	20.0a	147.2c	3.2a
處理二	1.35b	0.19a	1.96ab	0.70ab	1.16a	1.4a	16.7ab	239.7b	2.6a
處理三	1.52ab	0.21a	1.98ab	0.58b	0.92a	2.5a	15.3b	147.1c	4.2a
處理四	1.42ab	0.20a	2.35a	0.73ab	1.13a	3.9a	18.1ab	385.1a	3.5a
處理五	1.35b	0.19a	1.90b	0.69ab	1.17a	2.6a	16.2ab	216.4bc	2.7a
處理六	1.32b	0.18a	1.93ab	0.70ab	1.17a	4.3a	14.5b	249.9b	2.4a

表 5. 土壤有效性遴中含量處理區葉片元素含量

中磷	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe	Cu
	----------------------- % -----------------------					----------------- mg/kg -----------------			
處理一	1.41a	0.18a	2.26a	0.55abc	0.19c	9.0a	29.3abc	86.2ab	5.3a
處理二	1.61a	0.23a	2.42a	0.62a	0.24c	6.8a	38.1a	113.0a	5.8a
處理三	1.47a	0.22a	2.03a	0.37c	0.88ab	3.8a	22.1bc	70.0b	2.6c
處理四	1.47a	0.21a	2.31a	0.59ab	0.37c	4.7a	30.2ab	85.4ab	4.8ab
處理五	1.42a	0.21a	2.06a	0.41bc	1.26a	5.6a	20.5c	75.9b	3.3bc
處理六	1.58a	0.27a	2.34a	0.68a	0.54bc	7.8a	35.8a	112.3a	5.5a

表 6. 土壤有效性遴高含量處理區葉片元素含量

高磷	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe	Cu
	----------------------- % -----------------------					----------------- mg/kg -----------------			
處理一	2.34a	0.28a	0.92a	1.09ab	0.31a	302.4a	24.2a	93.7bc	4.4a
處理二	2.30a	0.24a	1.09a	1.11a	0.33a	345.4a	25.7a	101.8ab	5.4a
處理三	2.56a	0.27a	0.87a	0.91ab	0.30a	320.3a	25.7a	83.8c	4.3a
處理四	2.27a	0.27a	0.91a	1.08a	0.31a	325.9a	22.9a	97.1abc	5.5a
處理五	2.47a	0.26a	1.15a	1.21b	0.36a	365.6a	27.6a	111.0a	5.7a

三、土壤養分分析

在土壤養分分析方面，由表 7 至表 9 可知各處理與對照在各土壤養分分析數值上均無顯著差異，僅可得知低磷區為鹼性土壤、中磷區為中性土壤、高磷區為酸性土壤，而目前溶磷菌的篩選，主要為使用磷酸鈣的選擇性培養基，亦即所篩選的溶磷菌在偏鹼富含磷酸鈣的環境下較能發揮其功效，這部分亦能解釋為何在本試驗中低磷區的溶磷菌肥成效較高。

表 7.土壤有效性遴低含量處理區土壤養分含量

低磷	pH	有機質	EC	P_2O_5	K_2O	CaO	MgO	Fe	Mn	Cu	Zn
		%	mS/cm	---------------------------------- mg/kg ----------------------------------							
處理一	7.6a	1.4a	0.081a	65.1a	69.6a	6838.0a	217.5a	216.6a	171.3a	1.3a	3.3a
處理二	7.6a	1.2a	0.093a	128.1a	53.0a	5495.0a	132.3a	198.5a	162.3a	1.5a	2.8a
處理三	7.6a	1.2a	0.114a	51.9a	49.7a	6075.0a	139.4a	210.4a	161.0a	1.4a	2.5a
處理四	7.5a	1.3a	0.116a	47.4a	56.7a	7275.0a	231.3a	237.8a	163.0a	1.2a	2.8a
處理五	7.7a	1.3a	0.132a	46.5a	63.9a	5930.0a	147.2a	237.2a	167.2a	1.4a	2.7a
處理六	7.6a	1.2a	0.164a	41.9a	52.5a	5682.0a	133.5a	198.5a	154.4a	1.4a	2.6a

表 8.土壤有效性遴中含量處理區土壤養分含量

中磷	pH	有機質	EC	P_2O_5	K_2O	CaO	MgO	Fe	Mn	Cu	Zn
			mS/cm	---------------------------- mg/kg ----------------------------							
處理一	6.0a	2.0a	0.032a	344.7a	116.5a	1189.2a	110.7a	25.8a	48.9a	0.5a	2.2a
處理二	6.2a	2.2a	0.031a	222.4a	105.7ab	1191.1a	105.7a	16.4a	47.1a	0.2a	2.2a
處理三	6.1a	2.8a	0.032a	185.7a	119.0a	1249.7a	95.8a	4.9a	41.7a	0.1a	2.1a
處理四	6.0a	2.1a	0.031a	246.1a	98.3ab	1230.4a	111.2a	16.4a	48.0a	0.2a	2.3a
處理五	5.9a	2.1a	0.031a	282.4a	93.5b	1403.5a	115.4a	22.6a	53.2a	0.3a	2.2a
處理六	6.0a	1.9a	0.030a	295.0a	106.0ab	1257.3a	109.0a	22.7a	52.4a	0.3a	2.1a

表 9.土壤有效性遴高含量處理區土壤養分含量

中磷	pH	有機質	EC	P_2O_5	K_2O	CaO	MgO	Fe	Mn	Cu	Zn
		%	mS/cm			------------	mg/kg	------------			
處理一	5.2a	2.4a	0.053b	2094.6a	249.8a	1496.3a	109.6a	196.7a	59.2ab	2.7a	6.3ab
處理二	5.1a	2.4a	0.073a	1830.6ab	256.1a	1517.8a	107.2a	144.6ab	74.7a	2.9a	8.5a
處理三	5.0a	2.3a	0.055ab	1609.6ab	223.3a	1164.4a	99.3a	136.8ab	51.8b	2.0a	4.3b
處理四	4.9a	2.3a	0.063ab	1081.3ab	229.7a	945.7a	91.1a	119.3b	50.6b	2.0a	2.8b
處理五	5.0a	2.4a	0.068ab	1624.0b	237.2a	1275.1a	101.2a	142.3ab	58.8ab	2.3a	4.8ab

四、綜合施肥法

在綜合施肥法中，我們以液態溶磷菌 (菌劑 1) ，採用不同的施用時間及不同施用法，產量結果如表 10，各處理與對照間無顯著差異，惟乾重產量最高為處理四 (種植後 30 d、45 d、土下 5 cm 灌施) ，其次為處理三 (種植後 15 d、30 d、土下 5 cm 灌施) ，結果顯示溶磷菌深施仍有其效益，惟因環境或其他因數未達顯著，而時間以種植後 30 d、45 d 澆灌較佳，由此亦可推論表層澆灌由於未深及作物根系較難發揮功效。

表 10. 綜合施肥法處理區產量及生長勢

綜合	鮮重	乾重	穗長	株高
	-------------kg / ha-------------		---------cm---------	
處理一	1178.1 a	987.3 a	21.3 a	69.2 a
處理二	1183.1 a	937.5 a	19.0 ab	71.85 a
處理三	1237.2 a	1005.9 a	20.7 a	70.15 a
處理四	1396.5 a	1122.8 a	18.8 ab	71.3 a
處理五	1289.8 a	804.5 a	16.5 b	69.6 a

表 11. 綜合施肥法處理區葉片元素含量

綜合	N	P	K	Ca	Mg	Mn	Zn	Fe	Cu
	-----------------------%-----------------------					-------------------mg/kg-------------------			
處理一	1.10a	0.10a	2.09a	0.73a	0.18a	11.8a	31.6a	90.7a	3.9a
處理二	1.23a	0.11a	1.94a	0.74a	0.19a	10.6a	33.3a	88.6a	4.3a
處理三	1.04a	0.09a	2.04a	0.81a	0.19a	34.8a	33.0a	105.3a	3.9a
處理四	1.18a	0.12a	2.02a	0.76a	0.19a	22.2a	30.1a	90.0a	4.3a
處理五	1.06a	0.08a	1.91a	0.71a	0.17a	13.6a	31.0a	87.8a	3.7a

表 12. 綜合施肥法處理區土壤養分含量

綜合	pH	有機質	EC	P_2O_5	K_2O	CaO	MgO	Fe	Mn	Cu	Zn
		%	mS/cm	------------------------------------mg/kg------------------------------------							
處理一	6.2a	2.5a	0.032a	338.8a	113.8a	1671.1a	102.4a	11.6a	54.7a	0.2a	3.0a
處理二	6.1a	1.9a	0.037a	281.9a	98.1a	1653.1a	93.2a	12.3a	52.0a	0.2a	2.8a
處理三	6.2a	2.3a	0.046a	343.8a	107.1a	1626.0a	106.8a	12.2a	47.8a	0.3a	2.7a
處理四	6.3a	2.7a	0.032a	294.4a	104.3a	1650.7a	99.4a	8.9a	52.7a	0.3a	3.6a
處理五	6.3a	2.4a	0.105a	378.6a	112.8a	1606.0a	107.5a	10.4a	49.5a	0.3a	2.9a

結論

由本試驗結果可知在貧瘠的低磷地及鹼性土壤下，施用溶磷菌有機肥對於產量的提升有顯著的差異，而單純施用液態溶磷菌在低、中及高磷地區相較於對照亦有提升產量的趨勢，惟可能因環境因素而無顯著差異，綜合施肥法雖各處理與對照無差異，但亦可看出深層施用確實較表層澆灌的效用為佳。

引用文獻

1. 江晃榮。1993。農業生物技術。324-340。台北：國立編譯館。黃偉、黃欠如、胡鋒、吳洪生、李輝信。2006。 紅壤溶磷菌的篩選及溶磷能力的比較。生態與農村環境學報 22(3)：37-40。
2. 劉曉芳、任鵬、孔健、黃曉東。2003。土壤中溶磷微生物的篩選。山東商業職業技術學院學報 3：3。
3. Damarjaya, D. I., J. Widada, K. Senoo, M. Nishiyama, and S. Otsuka. 2005. Mineral phosphate solubilizing bacteria isolated from various plant rhizosphere under different aluminum content. Indonesian Journal of Biotechnology 10(2)：814-821.
4. Hu X, J. Chen, and J. Guo. 2006. Two phosphate- and potassiumsolubilizing bacteria isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China. World Journal of Microbiology ＆ Biotechnology 22：983–990.

Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria on the Growth of Millet in Soil with Different Phosphorus Content

Wen-Yi Huang[1,*] and Chi-Chung Chang[2]

Summary

In order to test the application of phosphate solubilizing fertilizer in the field, we selected the representative crop millet in Taitung area to carry out the effect of phosphate solubilizing bacteria on the growth of millet with different phosphorus content. The results showed that the yield of treatment one (phosphate solubilizing bacteria within organic manure) was significantly different between the low and medium soil phosphorus content areas with the control. The application of liquid phosphate solubilizing fertilizer was not significantly different in all areas. The comprehensive fertilization method was based on liquid phosphate solubilizing fertilizer, even if it was applied deep into the root system. There may be a lack of organic matter and nutrients that can sustain the survival of phosphate solubilizing bacteria for a long time, so there is no significant benefit in every treatment. The result showed that the two commercially phosphate solubilizing bacteria in this test have no any millet growth promotion in the high soil phosphorus content area, and in the low- and medium- soil phosphorus content area, the nutrients of soil are not high, so the phosphate solubilizing bacteria with organic manure can be effective.

Key words: Phosphate solubilizing bacteria, Millet, Soil fertility, Taitung area.

[*] Corresponding author, e-mail: hwi@mail.ttdares.gov.tw
[1] Assistant Researcher, Taitung District Agricultural Research and Extension Station, Taitung, Taiwan, ROC.
[2] Associate researcher, Taitung District Agricultural Research and Extension Station, Taitung, Taiwan, ROC.

桃園地區溶磷菌肥料效果田間驗證與整合性施肥方法之建立

湯雪溶 [1,*]

摘要

近年來行政院農業委員會農糧署大力推動友善環境農業，提出許多補助措施，其中包含國產微生物肥料補助，希能引導農民使用微生物肥料，藉以改善農田地力，替代部分化學肥料，並帶動微生物肥料產業發展。補貼標的以農糧署網站公告登載推薦國產微生物肥料品牌名單為限，目前可以選擇之微生物肥料商品達 24 個，其中溶磷菌肥料商品佔 22 個。為了解溶磷菌肥料於田間施用之功效，本場於 2017 年及 2018 年分別進行溶磷菌肥料產品肥 (功) 效田間驗證試驗，栽種需磷肥較高如青割玉米、嫩莖萵苣及紅莧菜進行田間試驗。結果顯示，溶磷菌肥料效果與土壤有效性磷具有相關性，若土壤有效磷缺乏，則所施用之溶磷菌肥料效果有限，另雖然施用溶磷菌肥料未見明顯增產效果，但若在肥力較高之土壤環境，減少化學肥料用量並配合使用溶磷菌微生物肥料，仍可達到一定的產量水準。

關鍵詞：溶磷菌、驗證、整合性施肥方法。

前言

所謂微生物肥料係指其成分含具有活性微生物或休眠孢子，如細菌、放線菌、真菌、藻類及其代謝產物之肥料製品，應用於作物生產具有提供植物養分或促進養分利用等功效。是目前農業資材的新興產品。但目前農民對微生物肥料之認知有限，相關的使用目的、方式、應用要領及肥料功效不甚清楚。於是在推廣上有其困難度。因此，如何使農民願意施用生物性肥料搭配整合性施肥方式，並對實際產量及品質有幫助，為推廣友善環境耕作之挑戰。

---

[*] 通訊作者：sjtang@tydais.gov.tw

[1] 農委會桃園區農業改良場助理研究員。台灣。桃園市。

材料與方法

一、微生物肥料產品肥 (功) 效田間評估方法之建立

1. 試驗材料：溶磷菌 2 種、青割玉米明豐 3 號
2. 方法：
   (1) 試驗處理：依據農地土壤磷含量高低，採不同磷肥用量，並配合溶磷菌施用，檢視對青割玉米之影響，共分成 6 種處理，
      a. 處理 1：菌劑 1 (*Bacillus subtilis*) (稀釋 500 倍後澆灌) + 施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)。
      b. 處理 2：菌劑 2 (*Bacillus licheniformis*) (稀釋 400 倍後澆灌) + 施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)。
      c. 處理 3：菌劑 1 基質 (稀釋 500 倍後澆灌) + 施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)。
      d. 處理 4：菌劑 2 基質 (稀釋 400 倍後澆灌) + 施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)。
      e. 處理 5：施肥 (高磷不施/中磷 0.5 推薦量/低磷 0.75 推薦量)。
      f. 處理 6：不施肥。
   (2) 試驗設計：6 處理、4 重複，採逢機完全區集設計(RCBD)，小區面積 3 m * 10 m= 30 m^2，行間距 75 cm * 20 cm。
3. 栽培管理 (時期、肥培等)：參照青割玉米肥料推薦量及分配率施用基肥，於齊膝期施用追肥 1 次。
4. 調查項目：試驗前後土壤調查採樣分析，作物的生長狀況田間調查，包括生育狀況及產量等。

二、溶磷菌肥料產品肥(功)效田間評估方法之建立

1. 試驗材料：溶磷菌商品 2 種 (Bacillus subtilis、Bacillus licheniformis)、嫩莖萵苣(品種：綠葉大心)
2. 方法：
   (1) 處理 1：施用全量肥料推薦量

(2) 處理 2：施用 2/3 氮磷鉀推薦量
(3) 處理 3：施用 2/3 氮磷鉀推薦量+微生物商品 1 (*Bacillus subtilis*)
(4) 處理 4：施用 2/3 氮磷鉀推薦量+微生物商品 2 (*Bacillus licheniformis)*
(5) 處理 5：施用 2/3 氮磷鉀推薦量+滅菌後微生物商品 1
(6) 處理 6：施用 2/3 氮磷鉀推薦量+滅菌後微生物商品 2
(7) 處理 7：對照組 0-不施肥
(8) 處理 8：對照組 1-施用微生物商品 1+等量化學肥料
(9) 處理 9：對照組 2-施用微生物商品 2+等量化學肥料

3. 試驗設計：採逢機完全區集設計 (RCBD)，9 處理*4 重複=36 小區，小區面積 1.5 m * 4 m = 6 m^2。
4. 栽培管理 (時期、肥培等) :栽培時期於 2018 年 2 月中下旬定植，4-5 月採收。參照作物施肥手冊肥料推薦量及分配率施用基肥，定植後 15-20 d 施用 1 追及 30-40 d 施用 2 追。
5. 調查項目：試驗前後土壤理化性質、嫩莖萵苣單株重、株高、單莖重及莖粗細、產量調查及植體鮮乾重與營養元素含量等。

三、建立溶磷菌微生物肥料與化學肥料或有機質肥料整合性施肥方法

1. 試驗材料：溶磷菌 2 種(Bacillus subtilis、Bacillus licheniformis)、紅莧菜
2. 方法：

(1) 處理 1：施用全量肥料推薦量
(2) 處理 2：施用全量氮鉀肥推薦量+1/2 推薦量磷肥
(3) 處理 3：施用全量氮鉀肥推薦量+1/2 推薦量磷肥+微生物商品 1(*Bacillus subtilis*)
(4) 處理 4：施用全量氮鉀肥推薦量+1/2 推薦量磷肥+微生物商品 2(*Bacillus licheniformis*)
(5) 處理 5：不施磷肥+施用全量氮鉀肥推薦量+10 ton ha^{-1} 堆肥
(6) 處理 6：不施磷肥+施用全量氮鉀肥推薦量+微生物商品 1+10 ton ha^{-1} 堆肥
(7) 處理 7：不施磷肥+施用全量氮鉀肥推薦量+微生物商品 2+10 ton ha^{-1} 堆肥
(8) 處理 8：對照組-完全不施肥

3. 試驗設計：採逢機完全區集設計 (RCBD)，8 處理*4 重複=32 小區，小區面積 1.5 m * 4 m = 6 m^2。
4. 栽培管理 (時期、肥培等) :栽培時期於 2018 年 5 月中下旬定植，6-7 月採收。依前人研究，所有肥料量做基肥 1 次施用，不施追肥。
5. 調查項目：試驗前後土壤理化性質、莧菜產量調查、植體鮮乾重及營養元素含量分析等。

結果與討論

一、微生物肥料產品肥 (功) 效田間評估方法之建立

青割玉米 5 株鮮重在高磷區以處理 2 最高為 2.8 kg，處理 6 不施肥處理最低 1.3 kg (表 1)。中磷區以處理 1 最高 3.0 kg，處理 6 不施肥處理最低 1.2 kg (表 2)。低磷區處理 1 最低 1.7 kg，其餘處理無顯著差異 (表 3)。5 穗乾重在高磷區以處理 4 最高 368 g，處理 6 最低 88 g，中磷區處理 5 最高 343 g，處理 6 最低 65 g，低磷區處理 2 最高 285 g，處理 6 最低 58 g。

表 1. 不同微生物肥料產品對青割玉米生長勢影響 (高磷)

處理	5 株鮮重(kg)	5 株乾重(g)	5 株果穗乾重(g)
菌劑 1+施肥	2.5 ± 0.3	867.5 ± 102.8	285.0 ± 47.7
菌劑 2+施肥	2.8 ± 0.3	960.0 ± 77.8	325.0 ± 74.0
菌劑 1 基質+施肥	2.7 ± 0.4	982.5 ± 171.5	302.5 ± 53.1
菌劑 2 基質+施肥	2.8 ± 0.3	1,027.5 ± 90.9	367.5 ± 71.9
施肥	2.5 ± 0.2	927.5 ± 48.2	300.0 ± 32.4
完全不施肥	1.3 ± 0.8	437.5 ± 158.0	87.5 ± 47.6

表 2. 不同微生物肥料產品對青割玉米生長勢影響 (中磷)

處理	5 株鮮重(kg)	5 株乾重(g)	5 株果穗乾重(g)
菌劑 1+施肥	3.0 ± 0.4	1,080.0 ± 137.7	332.5 ± 59.7
菌劑 2+施肥	2.6 ± 0.6	1,002.0 ± 198.4	275.0 ± 93.4
菌劑 1 基質+施肥	2.9 ± 0.6	1,067.0 ± 210.2	317.5 ± 92.6
菌劑 2 基質+施肥	2.8 ± 0.5	1,035.0 ± 144.7	282.5 ± 76.3
施肥	3.2 ± 0.9	1,207.5 ± 288.6	342.5 ± 134.0
完全不施肥	1.2 ± 0.8	527.5 ± 382.8	65.0 ± 112.6

表 3. 不同微生物肥料產品對青割玉米生長勢影響 (低磷)

處理	5 株鮮重(kg)	5 株乾重(g)	5 株果穗乾重(g)
菌劑 1+施肥	1.9 ± 0.3	720.0 ± 97.0	167.5 ± 20.5
菌劑 2+施肥	2.7 ± 0.6	975.0 ± 225.0	285.0 ± 89.6
菌劑 1 基質+施肥	2.3 ± 0.5	830.0 ± 159.5	247.0 ± 91.5
菌劑 2 基質+施肥	2.2 ± 0.4	855.0 ± 162.7	217.5 ± 86.4
施肥	2.4 ± 0.2	862.5 ± 54.0	247.5 ± 43.2
完全不施肥	1.0 ± 0.1	347.5 ± 43.2	57.5 ± 28.6

二、溶磷菌肥料產品肥 (功) 效田間評估方法之建立

表 4 嫩莖萵苣 5 株平均收穫調查結果，顯示莖鮮重以處理 6 (溶磷菌肥料商品 2 經滅菌)最重 169.5 g (5 株平均)，處理 9 (使用與商品 2 同樣含量之液肥) 最輕 117.0 g，但各處理間無差異。葉鮮重以處理 4 (使用微生物肥料商品 2) 最高 132.5 g，處理 3 (使用微生物肥料商品 1) 最低 102.0 g。總鮮重以滅菌商品 294.0 g 最高，對照組不施肥最低，各處理間無顯著差異。

三、建立溶磷菌微生物肥料與化學肥料或有機質肥料整合性施肥方法

紅莧菜 3 期作後平均產量，以處理 6 (不施磷肥+施用全量氮鉀肥推薦量+微生物商品 1+10 ton ha^{-1} 堆肥)8.65 ton ha^{-1} 最高，處理 2 (施用全量氮鉀肥推薦量+1/2 推薦量磷肥) 7.06 ton ha^{-1} 最低。各處理間無顯著差異。但使用微生物肥料商品處理之產量均略高於僅施用化學肥料之處理 (表 5) 。

紅莧菜植體磷含量分析結果，以處理8完全不施肥的3期作平均磷含量最高 0.48 %，處理5 (不施磷肥+施用全量氮鉀肥推薦量+10 ton ha^{-1}堆肥) 磷含量最低 0.41 %，各處理間有顯著差異。與產量比對下未呈現相關性 (表6) 。

結論

1. 在溶磷菌肥料產品肥(功)效田間評估方法之建立，在青割玉米試驗中，供試溶磷菌微生物肥料以菌劑 2(磷菌肥)施用在高磷區及低磷區 5 株鮮重、乾重及果穗乾重最高。中磷區以未施用溶磷菌僅施肥處理之 5 株鮮重、乾重及果穗乾重最高，其次為施用菌劑 1 (善玉肥 1 號) 處理。

表 4. 嫩莖萵苣 5 株收穫平均重量調查 (單位：g)

處理	鮮重 (莖)	鮮重 (葉)	鮮重 (莖+葉)
1 (全量)	127.5 a	120.5 a	248.0 a
2 (2/3 化肥)	132.0 a	113.0 a	245.0 a
3 (商品 1)	117.5 a	102.0 a	219.5 a
4 (商品 2)	141.5 a	132.5 a	274.0 a
5 (滅菌 1)	128.0 a	131.0 a	259.0 a
6 (滅菌 2)	169.5 a	124.5 a	294.0 a
7 (對照組)	102.5 a	107.5 a	210.0 a
8 (液肥 1)	146.5 a	122.0 a	268.5 a
9 (液肥 2)	117.0 a	107.5 a	224.5 a

表 5. 莧菜產量調查結果 (kg/ha)

處理	第 1 作	第 2 作	第 3 作	平均
1	7,708 a	8,667 a	5,125 a	7,167 a
2	7,375 a	8,333 a	5,458 a	7,056 a
3	7,792 a	8,367 a	5,917 a	7,358 a
4	7,833 a	8,400 a	5,250 a	7,161 a
5	8,125 a	8,533 a	6,958 a	7,872 a
6	8,750 a	10,033 a	7,167 a	8,650 a
7	8,792 a	9,200 a	6,708 a	8,233 a
8	7,542 a	8,833 a	5,500 a	7,292 a

表 6. 莧菜植體磷含量 (%)

處理	第 1 作	第 2 作	第 3 作	平均
1	0.50 ab	0.50 a	0.39 ab	0.46 ab
2	0.47 bc	0.48 ab	0.40 ab	0.45 bc
3	0.45 c	0.49 a	0.40 ab	0.44 bc
4	0.47 bc	0.50 a	0.37 ab	0.45 bc
5	0.43 c	0.43 bc	0.37 ab	0.41 d
6	0.53 a	0.47 abc	0.35 b	0.45 bc
7	0.52 a	0.42 c	0.35 b	0.43 c
8	0.54 a	0.47 abc	0.42 a	0.48 a

2. 在溶磷菌肥料產品肥(功)效田間評估方法之建立嫩莖萵苣試驗中，雖然各處理間植體鮮重無顯著差異性，但使用微生物肥料處理之總鮮重調查略高於完全不施肥處理。顯示供試用微生物肥料仍有些許增重之效果，且商品 2 與施用全量化學肥料處理比較下有較佳之表現。

3. 建立溶磷菌微生物肥料與化學肥料或有機質肥料整合性施肥方法紅莧菜試驗結果，使用微生物商品 1 及 2 搭配有機質肥料之紅莧菜 3 作平均產量均優於其他處理，惜未達顯著差異，此顯示使用微生物肥料商品時，如欲達到較佳效果，應與粗纖維性有機質肥料搭配較佳。

引用文獻

1. 楊秋忠。2000。生物肥料的特性及使用要領。國立中興大學土壤環境科學系及土壤調查中心。P.7-1~7-3。
2. 楊秋忠。2004。土壤與肥料 (第九版) (442-494)。農世股份公司。台中。
3. 楊秋忠、趙震慶、沈佛亭。2012。微生物肥料的介紹。微生物肥料應用手冊：9-18。中華肥料協會。
4. 蘇秋華、洪麗蓉、楊秋忠。2000。不同有機質材施用對土壤固氮菌及溶磷菌之影響。中國農化學誌。
5. Knudsen, O, G. A. Peterson, and P. F. Pratt. 1982. Lithium, sodium and potassium. In A. L. Page (ed.) Methods of soil analysis. Part 2. 2nd edtion Agronomy. p.225-246. ASA. Madison. WI.
6. Murphy, J. and L. E. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Anal. Chem. Acta. 27: 31-36.
7. Nelson, D. W. and L. E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In A.L. Page (ed.) Methods of soil analysis, part 2. 2nd ed. Agronmy Monograph no.9, p. 539-579.

Establish Integrated Fertilization Methods and Evaluation with Verification of Microbial fertilizers Effect in Tao-yuan District

Hsueh-Jung Tang [1,*]

Summary

Quantitative indicators of activity of microbial fertilizer and evaluation methods of fertilizer (work efficiency) will be established to provide a reference for the future revision of the commodity specification of microbial fertilizer by the Agricultural Development and Reform Commission to ensure the quality of microbial fertilizer products and protect the rights of farmers.

2017 of microbial fertilizer products field evaluation methods established, the test crop is feed corn, according to the amount of fertilizer in the soil to adjust the amount of farmland soil and fertilizer on the two kinds of phosphate-solubilizing bacteria regularly to observe the impact on the yield. The results showed that the effects of using phosphate solubilizing fertilizer on the yield of maize under different phosphorus contents were all different.

2018 Establishing a field evaluation method for the fertilizer effect of phosphate-dissolving bacteria fertilizer products in Tao-yuan area and experiments of integrating phosphorus-dissolving bacteria microbial fertilizer with chemical fertilizer or organic fertilizer integrated fertilization method, Asparagus lettuce and Red Amaranth was tested in the field. The results showed that the yield difference between the treatments was not significant, although the application of the phosphate solubilizing fertilizer did not significantly increase the yield, but the reduction of the amount of chemical fertilizer and the use of phosphorus-dissolving bacteria microbial fertilizer conditions, can still achieve a certain level of production.

Keywords: Verification, Phosphate-Solubilizing Bacteria, Evaluation; Integrated fertilization methods.

---

[*] Corresponding author, e-mail: sjtang@tydais.gov.tw

[1] Assistant Researcher, Taoyuan District Agricultural Research and Extension Station , Taoyuan, Taiwan, ROC.

溶磷菌肥料在茶樹之肥 (功) 效評估及驗證

戴佳如[1,*]、林秀燊[2]、林金池[3]、邱垂豐[4]、蔡憲宗[5]

摘要

國內目前微生物肥料在登記時得免附肥料效果試驗報告，且無定量的微生物活性指標規範，使微生物肥料商品在田間施用時，常出現有效與無效兩極化反應，使得農民對微生物肥料缺乏信心。因此，本試驗目的為 (1) 以市售 2 種溶磷菌肥料 (菌種為 *Bacillus amyloliquefaciens* 和 *Bacillus subtilis*) 搭配化學肥料並減量施用， (2) 以市售 1 種溶磷菌肥料 (菌種：*Bacillus licheniformis*) 搭配化學肥料和有機質肥料並減量施用，探討其對茶樹生長及製茶品質之影響，以建立田間驗證評估模式。試驗結果顯示，施用兩種溶磷菌肥料後，在各處理間之溶磷菌有效菌數並沒有顯著性差異；施用溶磷菌肥料對茶菁產量和茶葉養分含量亦無顯著性差異，但在感官品評部分，以處理四 (1/2 化學肥料推薦量+菌劑二) 之茶湯滋味表現最佳，排序為第一名。在搭配化學肥料和有機質肥料施用部分，肥料種類對製茶品質之影響大於施用溶磷菌肥料之影響。

關鍵字：茶、溶磷菌肥料、感官品評

前言

茶樹是臺灣重要的葉用經濟作物，多年生木本，年採收 2-5 次，適合生長在 pH 4.0-5.5 的酸性土壤，營養需求以氮素最高，磷鉀次之，成木茶園之施肥推薦用

* 通訊作者：tres620@ttes.gov.tw
[1] 行政院農業委員會茶業改良場 助理研究員。臺灣 桃園市。
[2] 行政院農業委員會茶業改良場 副研究員。臺灣 桃園市。
[3] 行政院農業委員會茶業改良場 研究員兼產業服務課課長。臺灣 桃園市。
[4] 行政院農業委員會茶業改良場 研究員兼副場長。臺灣 桃園市。
[5] 行政院農業委員會茶業改良場 研究員兼茶作技術課課長。臺灣 桃園市。

量為氮-磷酐-氧化鉀 450-160-160 公斤/公頃/年。土壤中磷的固定和沉澱通常與 pH 和土壤型態具有高度相關，因在酸性土壤中磷主要被游離氧化物和鋁、鐵的氫氧化物所固定；而在鹼性土壤則是被鈣固定，導致可溶性磷肥的利用率很低 (Goldstein 1986；Johns *et al*. 1991)。由於土壤的固定作用，可溶性磷肥施入農田後大部分迅速轉變為作物難以吸收的無效磷，無法被植物直接吸收利用，導致作物施入磷肥的當季利用率僅為 5-25 % (謝等，2014)。而把土壤中的無效磷釋放出來對於提高土壤有效性磷含量和減少磷肥使用量具有重要意義 (Bashan *et al*. 2013)，充分利用土壤中的溶磷微生物，為增進磷肥利用率的對策之一。

土壤微生物中，具有溶磷能力的微生物總稱為「溶磷微生物」(phosphate solubilizing microorganism) 或「溶磷菌」(phosphate solubilizing bacteria)，可將土壤中的無效性磷轉變為有效性磷，目前已知可溶解難溶性磷之微生物包括細菌、放線菌及真菌類，一般以細菌類最為常見 (楊秋忠 2011)。這些微生物除了供應可溶性磷給植物外，也對植物的生長有益，其作用機制如合成吲哚乙酸 (IAA)、激勃素 (gibberellins)、細胞分裂素 (cytokinins)、離層酸 (abscisic acid)、1-胺基環丙烷－1-羧酸脫氨酶 (1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase)、載鐵物質 (siderophores) 和氰化氫 (hydrogen cyanide) (Khan *et al*. 2014)。

國內目前微生物肥料登記時得免附肥料效果試驗報告，而微生物肥料商品在田間施用時，常出現有效與無效兩極化之反應，因此，為了解市售溶磷菌產品於茶園施用之效果，本試驗以市售 2 種溶磷菌產品施用於茶園，探討施用溶磷菌對茶樹生長及製茶品質之影響。

材料與方法

一、溶磷菌施用於茶園之肥 (功) 效評估試驗

1. 試驗茶樹品種：臺茶 17 號；桃園市楊梅區。
2. 溶磷菌肥料：
   (1) 菌劑一：液態，菌種為 *Bacillus amyloliquefaciens*。
   (2) 菌劑二：粉劑，菌種為 *Bacillus subtilis*。
   (3) 菌劑一基質：將菌劑一經滅菌釜高壓滅菌 (121℃，20 min，冷卻，再滅菌，共滅菌 3 次) ，確認樣品達到滅菌要求後，供試驗用。

(4) 菌劑二基質：將菌劑一經滅菌釜高壓滅菌 (121℃，20 min，冷卻，再滅菌，共滅菌 3 次) ，確認樣品達到滅菌要求後，供試驗用。

3. 試驗設計處理：

處理一：全量化學肥料推薦量

處理二：1/2 化學肥料推薦量

處理三：1/2 化學肥料推薦量+菌劑一

處理四：1/2 化學肥料推薦量+菌劑二

處理五：1/2 化學肥料推薦量+菌劑一基質

處理六：1/2 化學肥料推薦量+菌劑二基質

處理七：完全不施肥

處理八：依據菌劑一基質之 N, P, K 含量，以等量之化學肥料施用

處理九：依據菌劑二基質之 N, P, K 含量，以等量之化學肥料施用

每處理 3 重複，採 CRD 設計。

4. 溶磷菌施用方式：

(1) 原液稀釋 800 倍，澆灌於茶樹兩側，距離主幹 30-40 cm 處，溶磷菌稀釋液施用量為 16.8 L/30 m^2。

(2) 沒有施用溶磷菌肥料之處理，亦需添加等量灌溉水。

(3) 2 個禮拜澆灌 1 次，至採收前共澆灌 2 次。

5. 生育調查與分析項目

(1) 產量調查

(2) 植體養分分析

(3) 土壤性質分析

(4) 茶樹根圈土壤之溶磷活菌數分析

(5) 製茶品質：各處理之茶菁採摘後，製成綠茶，進行感官品評。

二、溶磷菌肥料與化學肥料和有機質肥料搭配施用

1. 試驗茶樹品種：臺茶 20 號；桃園市楊梅區。

2. 肥料種類：

(1) 溶磷菌肥料：液態，菌種為 *Bacillus licheniformis*。

(2) 化學肥料：硫酸銨、硫酸鉀、磷酸一銨。

(3) 有機質肥料：花生粕。

3. 試驗設計處理：

處理一：全量推薦量 (化學肥料)

處理二：1/2 推薦量 (化學肥料)

處理三：1/2 推薦量 (化學肥料) +溶磷菌

處理四：3/4 推薦量 (化學肥料) +溶磷菌

處理五：全量推薦量 (有機質肥料)

處理六：1/2 推薦量 (有機質肥料)

處理七：1/2 推薦量 (有機質肥料) +溶磷菌

處理八：3/4 推薦量 (有機質肥料料) +溶磷菌

每處理 3 重複，採 CRD 設計。

4. 溶磷菌施用方式：

(1) 原液稀釋 800 倍，澆灌於茶樹兩側，距離主幹 30–40 cm 處，溶磷菌稀釋液施用量為 16.8 L/30 m^2。

(2) 沒有施用溶磷菌肥料之處理，亦需添加等量灌溉水。

(3) 2 個禮拜澆灌 1 次，至採收前共澆灌 3 次。

5. 生育調查與分析項目：

(1) 產量調查

(2) 植體養分分析

(3) 土壤性質分析

(4) 茶樹根圈土壤之溶磷活菌數分析

(5) 製茶品質：各處理之茶菁採摘後，製成綠茶，進行感官品評。

三、統計分析方法：以 SAS Enterprise Guide 7.1 統計分析軟體進行 Fisher 的最小顯著差異法檢定。

結果與討論

一、溶磷菌施用於茶園之肥 (功) 效評估試驗

土壤溶磷微生物的種類繁多，不同土壤類型、不同作物根圈等條件下，溶磷微生物分布均有所不同 (孫等，2016) ，茶園根圈土壤溶磷細菌主要為假單孢菌屬 (*Pseudomonas*) 及芽孢桿菌屬 (*Bacillus*) (張 1994；Sood *et al*. 2008) 。本研究使用之溶磷菌肥料共 2 種，菌劑一為 *Bacillus amyloliquefaciens*，菌劑二為 *Bacillus subtilis*，為釐清此類肥料之效用是因為溶磷菌之效果或是養分供應所造成，因此，處理三和處理四為將菌劑一和菌劑二分別滅菌後再施用。菌劑和菌劑基質每兩週施用一次，於春茶採收後，採集根圈土壤進行土壤溶磷有效菌數分析，因本研究並無追蹤施用到土壤中之該溶磷菌消長情形，僅探討施用溶磷菌後，對土壤溶磷微生物消長情形進行討論，因此，僅測定土壤溶磷有效菌數。茶樹適合生長在酸性土壤，本試驗使用之溶磷菌配方為測定溶鐵磷菌。試驗前土壤性質分析結果如表 1，根圈土壤溶鐵磷菌有效菌數分析結果如表 2 所示，試驗前後在各處理間並沒有顯著性差異。溶磷菌施入土壤之作物根圈後，很難長期維持高的菌數，因為溶磷菌在土壤有相生相剋之現象或被捕食之問題 (楊 2011) ，而且土壤中有數種溶磷菌，通常它們的數量並沒有高到足以和已建立在根圈的其他微生物相抗衡 (Rodríguez & Fraga 1999) ，這可能是造成處理間溶磷菌之有效菌數沒有顯著性差異之原因。

各處理間之茶菁產量並無顯著性差異 (表 3) ，此與張和楊 (1999) 之試驗結果相同，有無施用溶磷菌對茶菁產量無明顯差異。氮為決定茶菁產量高低的主要

表 1. 試驗前土壤基本性質

處理項目	pH (1:1)	EC(1:1) dS m^{-1}	OM %	Available P mg kg^{-1}	Exch. K mg kg^{-1}	Exch. Ca mg kg^{-1}	Exch. Mg mg kg^{-1}
處理一	3.91	0.14	5.27	254	135	125	13.0
處理二	3.99	0.15	3.98	163	136	124	12.3
處理三	3.91	0.15	4.75	158	161	88	11.1
處理四	3.89	0.10	4.44	227	132	76	10.7
處理五	3.86	0.16	4.51	326	124	96	10.3
處理六	3.93	0.15	6.30	246	137	119	13.2
處理七	3.96	0.15	6.04	243	130	122	13.4
處理八	4.01	0.19	5.30	195	160	149	16.6
處理九	3.81	0.16	4.54	297	129	84	10.6

因素，磷、鉀對茶菁產量的影響不甚明顯 (吳 1997) 。茶葉養分分析結果如表 4 所示，各處理之茶葉磷含量並無顯著性差異，且都在適宜範圍內。茶樹是對磷缺乏有極高耐受性的物種，其體內對磷的利用效率會隨著外部磷供應的減少而強烈的增加 (Salehi & Hajiboland 2008) ，這可能是各處理間茶葉磷含量無顯著性差異之原因。

表 2. 試驗前後之根圈土壤溶鐵磷菌有效菌數

單位：x 10^4 CFU / g 乾土

處理項目	試驗前	試驗後
全量化肥	73[a]	95[bc]
1/2 化肥	106[a]	85[c]
1/2 化肥加菌劑一	102[a]	96[bc]
1/2 化肥加菌劑二	72[a]	101[bc]
1/2 化肥加菌劑一基質	109[a]	95[bc]
1/2 化肥加菌劑二基質	97[a]	105[bc]
不施肥	114[a]	126[ab]
菌劑一基質之等量 NPK 化學肥料	114[a]	147[a]
菌劑二基質之等量 NPK 化學肥料	116[a]	110[abc]

Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher’s least significant difference (LSD) test.

表 3. 不同處理之茶菁產量

單位：g/30 m^2

處理項目	產量
全量化肥	4266[a]
1/2 化肥	5147[a]
1/2 化肥加菌劑一	4669[a]
1/2 化肥加菌劑二	4627[a]
1/2 化肥加菌劑一基質	4255[a]
1/2 化肥加菌劑二基質	5174[a]
不施肥	4415[a]
菌劑一基質之等量 NPK 化學肥料	5120[a]
菌劑二基質之等量 NPK 化學肥料	4259[a]

Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher’s least significant difference (LSD) test.

在製茶品質部分，將不同試驗處理之茶菁製成綠茶，進行感官品評，並以等級排序，結果如表 5 所示，以處理四 (1/2 化學肥料推薦量+菌劑二) 之茶湯滋味表現最佳，茶湯濃稠度高且甜度夠，排序為第一名；處理二 (1/2 化學肥料推薦量) 之香氣揚，排序為第二名；處理五 (1/2 化學肥料推薦量+菌劑一基質) 排序為第三名。

表 4. 各處理之茶葉養分含量

處理項目	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn	Al
	----------------		$mg\ g^{-1}$	----------------		-----------------		$mg\ kg^{-1}$	--------------	
處理一	32.0[a]	4.08[ab]	17.9[c]	2.94[a]	1.59[ab]	131[c]	814[a]	11.3[ab]	35.4[a]	270[a]
處理二	31.9[a]	4.05[ab]	18.1[bc]	2.84[ab]	1.59[ab]	116[c]	847[a]	11.1[ab]	33.3[ab]	273[a]
處理三	32.2[a]	4.16[a]	18.6[abc]	2.92[a]	1.63[a]	120[c]	844[a]	11.7[a]	34.2[ab]	265[a]
處理四	32.7[a]	4.14[ab]	18.4[bc]	2.76[ab]	1.63[a]	135[c]	763[a]	11.5[ab]	36.1[a]	275[a]
處理五	31.9[a]	3.89[ab]	18.8[abc]	2.68[b]	1.56[ab]	270[ab]	781[a]	11.2[ab]	33.7[ab]	272[a]
處理六	32.1[a]	4.08[ab]	19.7[a]	2.66[b]	1.61[ab]	319[a]	757[a]	11.2[ab]	35.2[ab]	270[a]
處理七	31.3[ab]	3.88[b]	19.1[ab]	2.74[ab]	1.54[b]	239[b]	759[a]	11.0[b]	32.9[ab]	287[a]
處理八	31.4[ab]	4.06[ab]	18.7[abc]	2.94[a]	1.61[ab]	238[b]	899[a]	11.3[ab]	33.1[ab]	299[a]
處理九	30.3[b]	4.07[ab]	18.8[abc]	2.90[a]	1.60[ab]	279[ab]	873[a]	11.4[ab]	32.1[b]	300[a]

Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's least significant difference (LSD) test.

表 5. 不同試驗處理之茶菁製成綠茶後之感官品評等級排序及評語

處理項目	等級排序	評語
全量化肥	6	
1/2 化肥	2	香氣揚
1/2 化肥加菌劑一	5	氣味強、帶苦
1/2 化肥加菌劑二	1	濃稠度高、帶苦味、甜度夠。茶湯乾淨度較處理六佳。
1/2 化肥加菌劑一基質	3	濃稠度高、苦味較處理四強。茶湯乾淨度較處理三佳。
1/2 化肥加菌劑二基質	4	微悶菁、淡菁澀、濃稠度適中
不施肥	8	淡菁澀
菌劑一基質之等量 NPK 化學肥料	7	濃稠度適中、菁澀
菌劑二基質之等量 NPK 化學肥料	9	淡、菁苦澀

二、溶磷菌肥料與化學肥料和有機質肥料搭配施用

溶磷菌肥料與化學肥料和有機質肥料搭配施用之試驗結果顯示，各處理之茶菁產量在統計上並無顯著差異 (表 6) 。茶葉養分分析結果顯示，施用有機質肥料處理之綠茶氮含量皆比化學肥料處理高，而其他元素則無顯著性差異 (表 7) 。綠茶感官品評結果顯示，以施用全量有機質肥料之處理等級排序為第 1，3/4 用量有

表 6. 溶磷菌肥料與化學肥料和有機質肥料搭配施用之不同處理茶菁產量

單位：g/30 m^2

處理項目	產量
全量 (化肥)	3724^{ab}
1/2 施肥 (化肥)	2920^{b}
1/2 施肥 (化肥) +溶磷菌	4712^{ab}
3/4 施肥 (化肥) +溶磷菌	4249^{ab}
全量 (有機肥)	4116^{ab}
1/2 施肥 (有機肥)	4823^{a}
1/2 施肥 (有機肥) +溶磷菌	4360^{a}
3/4 施肥 (有機肥) +溶磷菌	4261^{ab}

Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's least significant difference (LSD) test.

表 7. 溶磷菌肥料與化學肥料和有機質肥料搭配施用之不同處理茶葉元素含量

處理項目	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn	Al
	----------------	mg g^{-1}		----------------		-----------------		mg kg^{-1}	--------------	
處理一	29.9^{d}	3.89^{ab}	15.5^{a}	2.78^{ab}	1.51^{ab}	253^{ab}	932^{ab}	7.92^{b}	37.0^{a}	410^{abc}
處理二	29.5^{d}	3.79^{ab}	15.3^{a}	2.80^{a}	1.54^{ab}	226^{abc}	845^{ab}	7.88^{b}	37.4^{a}	443^{ab}
處理三	30.9^{cd}	3.61^{b}	15.1^{a}	2.71^{abc}	1.49^{b}	211^{bc}	965^{a}	7.60^{b}	35.7^{a}	454^{a}
處理四	32.1^{bc}	3.85^{ab}	15.3^{a}	2.54^{bc}	1.55^{ab}	267^{a}	859^{ab}	8.03^{b}	36.7^{a}	402^{abc}
處理五	33.0^{b}	3.95^{ab}	15.4^{a}	2.62^{abc}	1.57^{a}	248^{ab}	883^{ab}	9.14^{a}	37.9^{a}	368^{cd}
處理六	34.9^{a}	4.04^{a}	15.4^{a}	2.52^{c}	1.54^{ab}	191^{c}	916^{ab}	8.41^{ab}	37.3^{a}	318^{d}
處理七	35.0^{a}	3.76^{ab}	15.1^{a}	2.73^{abc}	1.54^{ab}	176^{c}	823^{b}	7.87^{b}	35.5^{a}	378^{bcd}
處理八	35.4^{a}	3.83^{ab}	15.0^{a}	2.65^{abc}	1.53^{ab}	211^{bc}	853^{ab}	7.90^{b}	36.9^{a}	380^{bcd}

Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's least significant difference (LSD) test.

機質肥料搭配溶磷菌之處理等級排序為第 2，施用全量化學肥料之處理等級排序為第 3，施用 3/4 用量化學肥料搭配溶磷菌之處理等級排序為第 4 (表 8) ，顯示減施肥料並搭配溶磷菌處理並不會優於全量施肥處理，肥料種類對製茶品質之影響大於微生物菌劑之影響。相關研究亦指出，施用有機肥比施化肥的茶樹新梢中纖維素減少，芽葉持嫩性好，葉底柔軟，且能顯著提高茶多酚、兒茶素類、咖啡因和可溶分等的含量，單施化肥不利這些成分的累積 (羅 1994) 。

結論

目前市售溶磷菌產品之溶磷活性主要是針對磷酸鈣及磷礦石，茶園土壤為酸性土壤，主要之難溶性磷酸鹽類為磷酸鐵或磷酸鋁，施用目前市售之溶磷菌產品至茶園土壤，對茶葉磷含量並無顯著性影響，但會提升綠茶製茶品質，推測可能是溶磷菌對植物生長有益之其他作用機制所造成。在溶磷菌肥料與化學肥料和有機質肥料搭配施用部分，減施肥料並搭配溶磷菌處理並不會優於全量施肥處理，肥料種類對製茶品質之影響大於微生物菌劑之影響。

表 8. 溶磷菌肥料與化學肥料和有機質肥料搭配施用之不同處理茶菁製成綠茶後之感官品評等級排序及評語

處理項目	等級排序	評語
全量 (化肥)	3	香、微菁
1/2 施肥 (化肥)	8	澀、淡
1/2 施肥 (化肥) +溶磷菌	7	微悶菁
3/4 施肥 (化肥) +溶磷菌	4	清
全量 (有機肥)	1	香
1/2 施肥 (有機肥)	5	微菁
1/2 施肥 (有機肥) +溶磷菌	6	微菁、空、淡、滋味乾淨
3/4 施肥 (有機肥) +溶磷菌	2	香揚、滋味強

引用文獻

1. 吳振鐸。1997。臺灣茶園土壤及茶樹需肥情形報告。吳振鐸茶學研究論文選集。科學農業出版社。
2. 張鳳屏。1994。茶園土壤管理對溶磷細菌之影響。臺灣茶業研究彙報 13:61-69。
3. 張鳳屏、楊秋忠。1999。磷肥及溶磷細菌對茶葉磷素吸收與茶葉品質之研究。土壤與環境 2(1):35-44。
4. 楊秋忠。 2011。微生物的肥料-溶磷菌的應用與要領。苗栗區農業專訊 53:3-5。
5. 謝亞萍、李愛荣、閆志。 2014。不同供磷水平對胡麻磷素養分轉運分配及其磷肥效率的影響。草業學報 23(1):158-166。
6. 羅淑華。1994。茶葉品質與施肥。福建茶葉 2:24-27。
7. Bashan Y, Kamnev A. A., and de-Bashan L. E. 2013. Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: A proposal for an alternative procedure · Biol. Fertil. Soils. 49 (4) : 465-479.
8. Goldstein A.H.1986.Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. Am. J. Altern. Agric. 1:51–57.
9. Khan M.S., Zaidi A, and Ahmad E. 2014. Mechanism of Phosphate Solubilization and Physiological Functions of Phosphate-Solubilizing Microorganisms. In: Khan MS, Zaidi A, Musarrat J (eds) Phosphate Solubilizing Microorganisms Priciples and Application of Microphos Technology. Springer, pp 31–62.
10. Jones D.A., Smith B.F.L, and Wilson M.J., and Goodman B.A.1991.Solubilizator fungi of phosphate in rice soil. Mycol. Res. 95:1090–1093.
11. Rodríguez H and Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnol. Adv. 17:319-339.
12. Salehi S. Y and Hajiboland R. 2008. A high internal phosphorus use efficiency in tea (*Camellia sinensis L.*) plants. Asian Journal of Plant Sciences 7(1):30-36.
13. Sood, A., Sharma, S., Kumar, V. and Thakur, R.L.2008. Established and abandoned tea (*Camellia sinensis*) rhizosphere: dominant bacteria and their antagonism. Polish journal of Microbiology. 57(1): 71-76.

Evaluation and Verification of Phosphorus-solubilizing Bacteria Fertilizer on Tea Plant

Jia-Ru Dai[1,*], Shiou-Ruei Lin[2], Jin-Chih Lin[3], Chui-Feng Chiu[4], and Hsien-Tsung Tsai[5]

Summary

In Taiwan, it is not requested to submit an experiment report of fertilizer effect whenever application for registration of microbial fertilizer. Furthermore, there is no regulation for the quantitative test of activity indicators. All of these factors could explain why both of effective and non-effective responses resulted from field trials. This contradictory response has made farmers lose their confidence to the microbial fertilizers. Therefore, in this study, (1) two commercial phosphorus-solubilizing bacteria fertilizer products were selected and used with chemical fertilizers, (2) one commercial phosphorus-solubilizing bacteria fertilizer product was selected and used with chemical and organic fertilizers to discuss its effect on tea production and quality to establish a field verification and evaluation model. Results showed that after using two commercial phosphate solubilizing bacteria fertilizers, population of phosphate solubilizing bacteria of rhizosphere soils were no significant difference among treatments. There were of no effect on the yields and nutrients content of tea with phosphate solubilizing fertilizers. For sensory evaluation, the treatment 4 was the best. In the application of chemical fertilizer and organic fertilizer, the effect of fertilizer type on tea quality is greater than the effect of applying phosphorus-solubilizing bacteria fertilizer.

Keywords: Tea, Phosphorus-solubilizing Bacteria Fertilizer, Sensory Evaluation

---

[*] Corresponding author, e-mail: tres620@ttes.gov.tw
[1] Assistant Researcher, Tea Research and Extension Station, Taoyuan, Taiwan, ROC.
[2] Associate Researcher, Tea Research and Extension Station, Taoyuan, Taiwan, ROC.
[3] Chief of Tea Extension Section, Tea Research and Extension Station, Taoyuan, Taiwan, ROC.
[4] Researcher and Deputy Director, Tea Research and Extension Station, Taoyuan, Taiwan, ROC.
[5] Chief of Tea Agronomy Section, Tea Research and Extension Station, Taoyuan, Taiwan, ROC.

生物性肥料在有機洋香瓜應用研究

黃瑞彰[1,*]、江汶錦[2]

摘要

菌根菌在作物育苗期接種是最經濟最有效率的時期，但菌根菌使用時，必須配合適當的肥料量，方能使菌根菌效果顯著。目前並無市售添加菌根菌之育苗介質，本計畫擬透過合理有機土壤與肥培管理，配合微生物肥料使用，健康土壤與作物，提昇瓜果類產量與品質，以達到永續農業利用及降低有機栽培生產成本。不同配方介質與菌種對洋香瓜育苗之菌根苗感染率，發現菌根感染以細椰纖：蛭石混合感染率最高 55.4%，泥炭：蛭石次之，而以泥炭：蛭石加蚓糞堆肥最低，感染率僅 43.4%。生長勢以泥炭：蛭石與蚓糞堆肥最優，細椰纖：蛭石最低，亦發現以細椰纖與蛭石為介質作物生長勢低於泥炭：蛭石，此可能為此細椰纖與蛭石配方養分含量較低所致。進行不同育苗介質試驗調查顯示植株生長勢，以接菌+蚓糞堆肥處理最高，未接菌處理最低，並進行植體採樣分析，以瞭解處理養分吸收情形，由葉片分析資料顯示蚓糞堆肥與接菌+蚓糞堆肥兩處理鉀離子濃度較未接菌處理低；接菌、蚓糞堆肥與接菌+蚓糞堆肥三處理之鈣與鎂濃度較未接菌處理高，鈉離子含量則以未接菌處理最高，其他三處理均有降低情形，此與作者前試驗接種菌根菌可以提昇甜瓜耐鹽分逆境能力。

關鍵詞：生物性肥料、菌根菌、蚓糞堆肥、洋香瓜、有機農業、根瘤線蟲。

前言

自然界中存在豐富之微生物資源，常將此種資源，利用在農作物生產，如將有益微生物接種在種子或施用在幼苗、土壤上，可增加植物營養要素之供應、提

* 通訊作者：jchuang@mail.tndais.gov.tw
[1] 農委會臺南區農業改良場副研究員。台灣 台南市。
[2] 農委會臺南區農業改良場助理研究員。台灣 台南市。

高土壤中養分之有效性、增進根系之生長與養分之吸收、保護根系及增進抗逆境能力等，均可稱之為 「微生物肥料」 應用 (楊 1990；古和黃 1994)。

農友大量施用農用化學物質造成土壤劣化與污染，影響土壤微生物多樣性，使生物制衡能力降低。土壤微生物是自然界中推動各種元素循環之最基層的生物。近年來，隨著生物技術的崛起，土壤微生物所扮演的角色日趨重要，目前國內已研發應用推廣之微生物肥料有根瘤細菌、溶磷菌及菌根菌等，根據試驗調查，豆類接種根瘤細菌或瓜類作物育苗接種叢枝菌根菌，皆可提高土壤營養分之供應及有效性，替代部份化學肥料，非但可節省肥料投入之成本，提高單位面積產量，增加農民收益，且可充分運用微生物資源，減緩農業生產對自然生態平衡及環境之衝擊 (楊 1990；黃 2009a)。

叢枝菌根菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 屬於接合菌綱 (Zygomycetes) 、繡球菌目 (Glomales)，是一種存在土壤中能與 90％陸地植物根部形成共生關係的有益真菌 (Smith & Read 1997)。叢枝菌根菌能促進作物生長與增加產量，可視為是一種生物性肥料 (Azcon & El-Atrash 1997；黃等 2010，2011)，尤其在一些逆境環境下菌根效果更為明顯 (Al-karaki 2000；Nzanza *et al*. 2012)。因此相較於一般減少環境壓力對作物生產的方法，為植物接種叢枝菌根菌似乎不失為另一較為便捷可行的自然方式。叢枝菌根菌是一類絕對共生菌 (obligately symbiotic fungi) ，要真正大量應用，必須先有適合之菌種與充足的接種源，並將接種工作導入正常的栽培生產程序中，其接種操作必須簡單，感染效率要高，且增產效果顯著，才能有足夠經濟效益 (鄔 2003)。自 1951 年代 Barbara Mossee 於英國開始倡導果樹的菌根研究以來，學者們即不斷探討利用菌根菌於農業生產上之可行性。在蔬菜方面，叢枝菌根菌無法感染十字花科蔬菜，且對生長期長、栽培面積大的作物，如茄科、葫蘆科等果菜類蔬菜應用潛能較高，這些作物大多均需育苗，呂 (1994) 及呂等 (1995) 指出，適當控制穴盤育苗條件可成功大量生產番茄及番椒菌根苗，鄔 (2003) 在其博士論文也指出，介質中混入 1/3 有機質肥料或每週施 1,000 倍之花寶四號溶液，能有效培育健壯的叢枝菌根苗。

蚓糞堆肥 (vermicomposting) 的製作技術已知為可將廢棄物藉由蚯蚓及微生物的作用，而轉變成無臭味且具較高植物養分、微生物生質量，土壤酵素和較低有害化合物的類似腐植質的產物 (Contrears-Ramos *et al*. 2005)。許多研究結果顯示

蚓糞堆肥有多重功能，可以刺激植物的營養吸收，促進植物的生長與根系的形成，有效提高植物的生產力與產量，對氮、磷、鉀具有吸附功能，可以緩慢且持續地提供植物養份，且蚓糞裏含有大量有益植物之放射菌及酵素。學者試驗顯示於甜瓜育苗介質添加適量蚓糞堆肥促進甜瓜幼苗發芽與生長 (Manh & Wang 2014)。

在臺灣推行有機蔬菜栽培，必須面對臺灣氣候的高溫多濕，因此面對頗多的挑戰與困難，包括針對適合有機栽培之蔬菜品種或種類的研究較少。一般有機栽培農戶偏好短期可採收的葉菜類蔬菜栽培為主，使消費者對有機農產品選擇相當有限，尤其在有機果菜類及長期蔬菜更是極為有限 (戴等 2012)。

甜瓜為臺灣重要經濟作物之一，常遭遇根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita*) 為害，根部產生纍纍根瘤，阻礙地上部枝蔓之生長，影響產量與品質至鉅，尤見於砂質壤土之連作田。學者指出叢枝內生菌根高度形成的根段，可減少根瘤線蟲侵染的空間，減少線蟲所造成之傷害 (程等 2001)。

鑑於囊叢枝內生菌根菌與瓜果類作物有良好之親和性，易感染形成囊叢枝內生菌根，產生有益效應。因此，本計畫擬探討合理有機土壤肥培管理與生物性肥料使用，對洋香瓜生育影響評估，達到健康臺灣，優質農業的目標。

材料與方法

一、不同配方育苗介質添加叢枝菌根菌對作物育苗之影響

取洋香瓜種子播種於 104 格 ($3 \times 3 \times 4$ cm^3) 穴盤中，不同配方介質包括瓜類育苗介質包括細椰纖 (coconut shell fiber, CSF)、泥炭 (peat moss, PM) 及蛭石 (vermiculite, V；廠牌：南海 2 號)；蚓糞堆肥 (Vermicompost, VC)。育苗介質處理為細椰纖：蛭石 (v/v；1:2) (2) 細椰纖：蛭石 (v/v；1:2) 與蚓糞堆肥，(3) 泥炭：蛭石 (v/v；1:2)，4.泥炭：蛭石 (v/v；1:2) 與蚓糞堆肥等 4 種；叢枝菌種為 *Glomus mosseae* 菌種，不接種為對照組。每穴處理接種量為 1 g 孢子土 (約 100 spores/g)，混合於介質，育苗二週後，每處理取 5 株苗檢測感染率與鮮、乾重。

二、不同配方育苗介質培育之洋香瓜穴盤菌根苗之田間栽培試驗

種植前先行採取土壤分析，進行施肥量調整，洋香瓜施肥量依據作物施肥手冊，施肥量(公斤／公頃) ：氮素 110-150、磷酐 210-250、氧化鉀 160-200。試驗品

種秋作為臺南12號，夏作為臺南13號，不同配方介質包括泥炭：蛭石 (v/v；1:1) 未接菌，泥炭：蛭石 (v/v；1:1) 接菌、泥炭：蛭石 (v/v；1:1) 加蚓糞堆肥與泥炭：蛭石 (v/v；1:1) 加蚓糞堆肥與接菌等4處理，叢枝菌種為 *Glomus mosseae* 菌種，不接種為對照組。每穴處理接種量為1 g孢子土 (約100 spores/g)，混合於介質，試驗設計採逢機完全區集設計 (RCBD)，4區集，每小區21 m^2，株距50 cm，40株。調查項目包括植株生長勢、植體分析、果實產量與品質分析，土壤化學性分析調查。

三、分析方法

(一) 菌根感染率檢測

洋香瓜菌根苗根洗淨以 2.5% (w/v) KOH 軟化，再以 0.05% 酸性品紅 (fuchsin) 進行染色。染色後再以格子線法求其感染率 (吳和林 1998)。

(二) 土壤分析

土壤分析於臺南本場土壤肥料研究室進行導電度、pH、有機質含量及主要與次要元素測定。茲將分析方法敘述如下：

1. 導電度 (electrical conductivity) 測定

秤取樣品15 g放入小型玻璃杯內，加蒸餾水75 ml (樣品與水之比為1:5) 作成懸浮體，過濾後，以導電度計 (US597型) 測定之 。

2. pH測定

秤取樣品15 g加蒸餾水75 ml (樣品與水之比為1:5) 作成懸浮體，以pH meter (TOA，HM-30V型) 測定之。

3. 有機質含量測定：

秤取樣品0.1 g放入石英杯，加1滴5% phosphate，在烘箱以250℃ 烘5 min 後以固體總有機碳分析儀測定 (TOC，吉偉儀器-SYSTEMATIC 型號: Model - 1020A，美國製) 。

4. P 的測定:以鉬藍法 (Bray No.1) 測定。

5. K、Ca、Mg 測定

以 Mehlich No. 3 抽出後以感應偶合電漿光譜儀 (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer, ICP; JY ULTIMA 2)。

(三) 糖度檢測

榨汁後取汁液滴入以手持式糖度計 (廠牌：Master，日本製) 直接檢測。

(四) 鮮乾重檢測

新鮮和乾葉重量 (g)，新鮮和乾根重量 (g)。在 80℃烘箱中乾燥下 48 h (所需要的時間，以獲得恆定的重量) ，測定乾重。

(五) 植體分析方法參考 Methods of Soil Analysis (Bigham & Bartels 1996) 植體經 70℃ 烘乾 48 h。以磨碎機 (榮聰牌 RT-04，1200 W，25000RPM) 將樣品磨碎，養分總量分析，氮為烘乾粉碎後直接以元素分析儀 (Elementar vario EL Ⅲ) 進行測定，磷、鉀、鈣、鎂為取烘乾植體經濕式分解後， 磷以鉬藍法測定，鉀、鈣、鎂、鈉以感應電漿水譜儀 (Inductively Coupled Plasma Emission Spectrophotometer, ICP，JY ULTIMA 2) 測定之並以標準溶液校正。

結果與討論

一、不同配方栽培介質添加叢枝菌根菌對作物育苗之影響

菌根菌並沒有宿主專一性 (host specificity)，不同菌種與宿主植物間接種效益會隨組合不同而有所差異，因此宿主、菌種、生長環境的組合是菌種試驗首要考慮的條件 (吳和林 1988)。莊和程 (1999) 以河砂為介質混合不同比例的泥炭繁殖菌根菌，顯示泥炭混合量越高，菌根的感染率則愈低，孢子的產生也有相同的趨勢，且泥炭用量在 33 及 55% 的處理，甚至未有孢子產生。不同配方介質與菌種對洋香瓜育苗之菌根苗感染率，發現菌根感染以細椰纖：蛭石混合感染率最高 55.4 %，泥炭：蛭石次之，而以泥炭：蛭石加蚓糞堆肥最低，感染率僅 43.4% (表 1)。生長勢以泥炭：蛭石與蚓糞堆肥最優，細椰纖：蛭石最低，亦發現以細椰纖與蛭石為介質作物生長勢低於泥炭：蛭石，此可能為此細椰纖與蛭石配方養分含量較低所致 (表 2)。上述資料顯示兩育苗介質添加蚓糞堆肥菌根苗有較佳生長勢，而苗感染率均降低，可能因介質含較高養分影響菌根感染。

二、不同配方育苗介質培育之洋香瓜穴盤菌根苗之田間栽培試驗

菌根菌可從根毛侵入根部，並將菌絲伸出根外，菌絲可分解土壤中的有機物，並吸收無機養分、低分子有機物和水分，促進生長，提昇移植存活率，增加產量與品質 (楊 1990；吳和林 1998；Nzanza *et al*. 2012)。洋香瓜栽培已經在臺南及高

表 1. 不同配方介質與菌種對作物育苗之菌根苗感染率情形
Table 1. Lists infection rates of seedlings inoculated with AMF in differt growth medium over 4 weeks.

Inoculants	Colonization rate (%)
CSF：V (v/v;1:2) G.m	55.4 ± 3.3
CSF：V (v/v;1:2) G.m + VC	48.4 ± 2.8
PM：V (v/v;1:2) G.m	52.5 ± 3.1
PM：V (v/v;1:2) G.m + VC	43.4 ± 2.5

G.m: *Glomus mosseae*

表 2. 不同配方介質與菌根菌對作物育苗之植株生長情形
Table 2. Lists growth conditions of seedlings inoculated with AMF in differ growth medium

Inoculants	Fresh weight (g)	Dry weight (g)
CSF：V (v/v;1:2) G.m	6.85 ± 0.15	0.75 ± 0.02
CSF：V (v/v;1:2) G.m + VC	10.6 ± 0.56	1.17 ± 0.06
PM：V (v/v;1:2) G.m	9.78 ± 0.21	1.08 ± 0.02
PM：V (v/v;1:2) G.m + VC	15.1 ± 0.82	1.66 ± 0.09

G.m: *Glomus mosseae*

雄地區應用菌根菌接種，獲得良好成效 (程等 1993，2001；黃 2004；黃等 2009b)，內生菌根植株能促進根群發育，增加根部對磷肥等要素之吸收能力，促進植株生長，與對照比較可提早七天開花結果與採收，並提高果品品質。惟黃等 (2010) 試驗其中一處接種菌根菌有負面效果產生，因土壤養分產生拮抗性，作物缺鎂導致葉片黃化，進而影響植株光合成產物產生。王 (2007) 指出叢枝體將菌本身用不完的水與養分送出至菌絲外，再由宿主細胞膜主動或被動吸收；而宿主植物葉片光合作用產物經篩管運送至根部，於皮層細胞具叢枝體處主動排出或滲漏至膜外之中間界面，再由叢枝體吸收作為菌根菌之碳素營養來源。因叢枝菌根菌需宿主植物提供光合產物，故任何影響光合產物的因素自然也會影響叢枝菌根發展與功能，當土壤與施肥管理不當均會影響接種菌根菌植株之效益。

秋作進行不同育苗介質試驗，調查顯示接種菌根菌與蚓糞堆肥可以促進洋香瓜幼苗生長勢 (圖 1)，秋作定植後植株生長勢，以接菌+蚓糞堆肥處理最高，未接菌處理最低 (表 3)，並進行植體採樣分析，以瞭解處理養分吸收情形，由葉片分析資料顯示蚓糞堆肥與接菌+蚓糞堆肥兩處理鉀離子濃度較未接菌處理低；接菌、蚓

糞堆肥與接菌+蚓糞堆肥三處理之鈣與鎂離子濃度較未接菌處理高，鈉離子含量則以未接菌處理最高，其他三處理均有降低情形，此與作者前試驗接種菌根菌可以提昇甜瓜耐鹽分逆境能力相符 (表 4)。調查果實產量與品質分析，果實產量與糖度均接菌+蚓糞堆肥處理最高，未接菌處理最低，分別高 9.4 % 與 0.6 °Brix (表 5)。

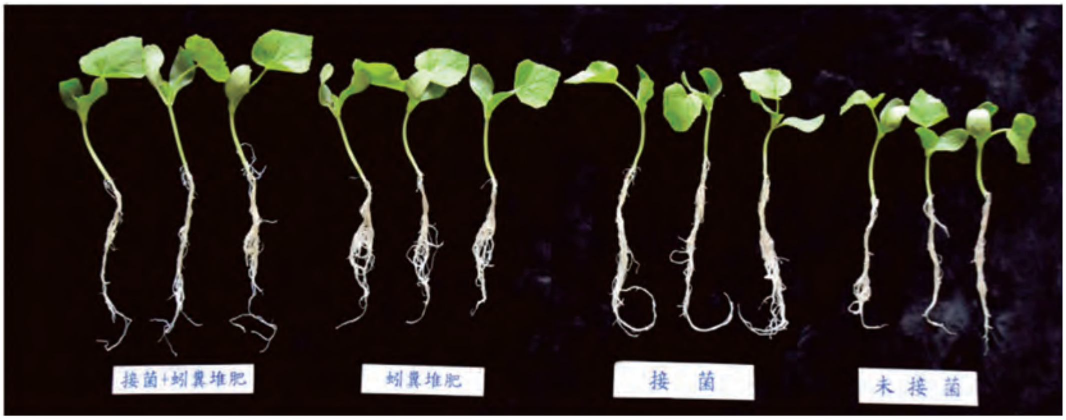


圖 1. 接種菌根菌與蚓糞堆肥可以促進洋香瓜幼苗生長勢 (右二起)

Fig 1. Inoculating arbuscular mycorrhiza and vermicompost promote the of growingmuskmelon (second from the right to left)

表 3. 不同介質處理對洋香瓜生育影響 (秋作)

Table 3. The influence of different growth medium on the arbuscular mycorrhizal muskmelon growth. (Autumn cropping)

Inoculants	Plant height (cm)	No. of leaf
未接菌	176 ± 4.5	22 ± 0.27
接菌	184 ± 8.7	22 ± 0.65
蚓糞堆肥	186 ± 8.7	23 ± 0.45
接菌+蚓糞堆肥	188 ± 5.2	23 ± 0.34

表 4. 不同介質處理對洋香瓜葉片元素之影響 (秋作)

Table 4. The influence of different growth medium on leaves mineral elements content of muskmelon plants. (Autumn cropping)

Inoculants	N (g kg^{-1})	P (g kg^{-1})	K (g kg^{-1})	Ca (g kg^{-1})	Mg (g kg^{-1})	Na (mg kg^{-1})
未接菌	45.4 ± 2.2	5.3 ± 0.1	39.0 ± 0.7	45.5 ± 5.1	8.0 ± 0.3	1,899 ± 71
接菌	45.0 ± 2.9	5.3 ± 0.0	38.8 ± 2.3	51.0 ± 6.7	9.0 ± 0.4	1,702 ± 82
蚓糞堆肥	44.9 ± 2.6	5.3 ± 0.4	34.3 ± 0.8	50.0 ± 1.7	9.3 ± 0.7	1,429 ± 123
接菌+蚓糞堆肥	45.6 ± 4.2	5.2 ± 0.2	32.5 ± 2.0	49. 2 ± 1.6	8.8 ± 0.2	1,416 ± 136

夏作進行不同育苗介質試驗調查植株生長勢，接菌+蚓糞堆肥 (70 g) 處理最高，未接菌處理最低 (表 6)。進行植體採樣分析資料顯示接菌與接菌+蚓糞堆肥兩處理之鉀與鈣離子濃度較未接菌處理高，鈉離子含量則以未接菌處理最高，其他三處理均有降低情形 (表 7) 。調查產量與果實品質分析，果實產量與糖度均接菌+蚓糞堆肥 (50 g) 處理最高，未接菌處理最低，分別高 7.2 % 與 0.9 °Brix (表 8)。

表 5. 不同介質處理對菌根洋香瓜產量與品質影響 (秋作)

Table 5. The influence of different growth medium on the arbuscular mycorrhizal muskmelon growth and yield and quality. (Autumn cropping)

Inoculants	Yields (kg/0.1ha)	Soluble solids (°Brix)
未接菌	2,119 ± 58	14.5 ± 0.27
接菌	2,184 ± 37	15.1 ± 0.12
蚓糞堆肥	2,269 ± 27	15.0 ± 0.15
接菌+蚓糞堆肥	2,319 ± 23	15.1 ± 0.18

表 6. 不同介質處理對洋香瓜生育影響 (夏作)

Table 6. The influence of different growth medium on the arbuscular mycorrhizal muskmelon growth. (Summer cropping)

Inoculants	Plant height (cm)	No. of leaf
未接菌	137 ± 6.7	18 ± 0.92
接菌	139 ± 2.3	18 ± 0.29
接菌+蚓糞堆肥 (50 g)	142 ± 3.0	19 ± 0.48
接菌+蚓糞堆肥 (70 g)	148 ± 3.0	19 ± 0.37

表 7. 不同介質處理對洋香瓜葉片元素之影響 (夏作)

Table 7. The influence of different growth medium on leaves mineral elements content of muskmelon plants. (Summer cropping)

Inoculants	N ($g\ kg^{-1}$)	P ($g\ kg^{-1}$)	K ($g\ kg^{-1}$)	Ca ($g\ kg^{-1}$)	Mg ($g\ kg^{-1}$)	Na ($mg\ kg^{-1}$)
未接菌	33.1 ± 2.6	5.1 ± 0. 3	33.2 ± 0.6	56.4 ± 1.8	12.0 ± 0.8	1,836 ± 92
接菌	35.7 ± 3.3	5.3 ± 0.2	36.0 ± 1.5	59.8 ± 1.9	11.9 ± 0.7	1,540 ± 106
接菌+蚓糞堆肥 (50 g)	33.9 ± 2.6	5.4 ± 0.4	34.3 ± 0.5	60.0 ± 1.7	12.2 ± 0.7	1,429 ± 123
接菌+蚓糞堆肥 (70g)	33.7 ± 2.4	5.1 ± 0.2	33.2 ± 1.0	56.3 ± 1.4	12.5 ± 1.4	1,437 ± 107

表 8. 不同介質處理對菌根洋香瓜產量與品質影響（夏作）
Table 8. The influence of different growth medium on the arbuscular mycorrhizal muskmelon growth and yield and quality. (Summer cropping)

Inoculants	Yields (kg/0.1ha)	Soluble solids (°Brix)
未接菌	3,620 ± 69	17.6 ± 0.2
接菌	3,800 ± 73	17.8 ± 0.3
接菌+蚓糞堆肥（50 g）	3,880 ± 71	18.5 ± 0.5
接菌+蚓糞堆肥（70 g）	3,750 ± 65	17.7 ± 0.4

結論

本試驗瞭解接種不同菌根菌與配方介質對不同作物感染及苗期生育健化情形並進一步瞭解定植穴植盤菌根苗生長情形。不同配方介質與菌種對洋香瓜育苗之菌根苗感染率，發現菌根感染以細椰纖：蛭石混合感染率最高 55.4%，泥炭：蛭石次之，而以泥炭：蛭石加蚓糞堆肥最低，感染率僅 43.4%。生長勢以泥炭：蛭石與蚓糞堆肥最優，細椰纖：蛭石最低，亦發現以細椰纖與蛭石為介質作物生長勢低於泥炭：蛭石，此可能為此細椰纖與蛭石配方養分含量較低所致。

進行不同育苗介質試驗調查顯示植株生長勢，以接菌+蚓糞堆肥處理最高，未接菌處理最低，並進行植體採樣分析，以瞭解處理養分吸收情形，由葉片分析資料顯示蚓糞堆肥與接菌+蚓糞堆肥兩處理鉀離子濃度較未接菌處理低；接菌、蚓糞堆肥與接菌+蚓糞堆肥三處理之鈣與鎂離子濃度較未接菌處理高，鈉離子含量則以未接菌處理最高，其他三處理均有降低情形，此與作者前試驗接種菌根菌可以提昇甜瓜耐鹽分逆境能力相符，促進果實產量與品質。

誌謝

感謝研究助理施惠淇小姐協助田間管理與試驗記錄工作，及土壤肥料研究室同仁協助各項檢測分析，使得本試驗得以圓滿執行完成。

引用文獻

1. 王均琍。2007。菌根菌應用於經濟果樹之栽培。農業生技產業季刊 12:43-48。
2. 古德業、黃伯恩。1994。生物肥料在永續農業上之應用及展望。微生物肥料之開發與利用研討會專刊 pp.1-4 台灣省農業試驗所嘉義分所
3. 呂斯文。1994。囊叢枝菌根菌之無土介質接種，接種源生產及菌種篩選研究。國立臺灣大學園藝學研究所博士論文。pp.172-191。
4. 呂斯文、張簡秀容、張喜寧。1995。利用穴植盤培育番茄菌根苗及其田間生長之反應。中國園藝41 (1):54-67。
5. 吳繼光、林素楨。1998。囊叢枝內生菌根菌應用技術手冊。台灣省農業試驗所pp.54。
6. 莊明富、程永雄。1999。泥炭苔對叢枝菌根菌繁殖之影響。中華農學研究48 (4):64~70.
7. 程永雄、杜金池、鄭安秀、陳紹崇。1991。內生菌根菌在洋香瓜栽培上之應用。台灣農業 27:53-55。
8. 程永雄、莊明富、杜金池 1993 內生菌根菌 *Glomus clarum* 應用在洋香瓜生產上之效益評估 中華農業研究 42 (1):74-84。
9. 程永雄、莊明富、蔡東纂。2001。洋香瓜囊叢枝內生菌根菌與根瘤線蟲之相互關係。植物病理學會刊 10:19-26。
10. 黃瑞彰、林晉卿。2009。微生物在蔬果生產之應用。生物科技產學論壇─生物製劑專刊。國立中興大學生物科技發展中心編印 pp.17-24。
11. 黃瑞彰、林晉卿、江汶錦、林經偉、卓家榮。2009。微生物在瓜果類作物生產之應用。臺南區農業專訊 70:13-17。
12. 黃瑞彰、林晉卿、陳紹崇。2010。內生菌根菌在洋香瓜生產之應用研究。臺南區農業改良場研究彙報 55:44-52。
13. 黃瑞彰、林晉卿、江汶錦、卓家榮、林經偉。2009。洋香瓜合理施肥。 豐年59(2):38-42。
14. 黃瑞彰、江汶錦、林經偉、卓家榮。2011。菌根菌的特性及田間應用技術。臺南區農業專訊 75:14-19。
15. 黃瑞彰、江汶錦。2017。生物性肥料在瓜果類作物生產的應用。豐年67 (10):90-95。
16. 黃瑞彰、黃圓滿、彭瑞菊、黃秀雯、陳昇寬、鄭安秀。2016。設施洋香瓜健康管理技術。臺南區農業改良場技術專刊 NO.166. 47頁。
17. 黃炤雄、蔡雲鵬、林奕耀、杜金池、黃修斌。1972。臺灣植物寄生線蟲 中研院植物研究所專刊第一號 p. 61。
18. 楊秋忠。1990。微生物肥料的種類及其應用品質。農藥世界 81:33-35。
19. 楊秋忠。2004。土壤與肥料。農世股份有限公司。台中。551頁。
20. 鄔家琪。2003。叢枝菌根對設施蔬菜在環境逆境下生長之影響。國立臺灣大學園藝學

研究所碩士論文 pp.90-112。

21. 鄭安秀、黃圓滿、黃瑞彰、陳昇寬、彭瑞菊 2009。洋香瓜安全生產管理。臺南區農業改良場技術專刊 NO.137。25頁。
22. 戴振洋、蔡宜峰、蔡正宏、陳葦玲。2012。甜瓜有機養液栽培技術。2012年有機農業研究團隊研發成果研討會專刊。花蓮區區農業改良場編印。
23. Adams, P. 1992. Crop nutrition in hydroponics. Acta Hort. 323:289-305.
24. Al-Karaki, G. N, R. Hammad, and M. Rusan. 2001. Response of two tomato cultivars differing in salt tolerance to inoculation with mycorrhizal fungi under salt stress.Mycorrhiza 11:43-47.
25. Azcon, R. and F. El-Atrash. 1997. Influence of arbuscular mycorrhizae and phosphorus fertilization on growth, nodulation and N_2 fixation (^{15}N) in *Medicago sativa* at four salinity levels. Biol. Fertil. Soils 24:81-86.
26. Christian S. and J. Olave. 2012. Effect of symbiosis in the production of melon seedlings with arbuscular mycorrhizal fungi. IDESIA (Chile) Mayo-Agosto 30(2): 75-83.
27. Contrears-Ramos, S.M., E.M. Escamilla-Silva, and L. Dendooven. 2005.Vermicomposting of biosolids with cow manure and oat straw. Biol. Fertil.Soils 41:190-198.
28. Hussey, R. S., and Roncadori, R. W. 1977. Interactions of *Pratylenchus brachyurus* and an endomycorrhizal fungus on cotton. J. Nematol. 9: 270-271.
29. Joshi, R., A.P. Vig. 2010. Effect of vermicompost on growth, yield and quality of tomato (*Lycopersicum esculentum* L) . African Journal of Basic ＆ Applied Sciences, 3:117-13.
30. Manh, C. H, and and Wang, V, H. 2014. Vermicompost as an Important Component in Substrate: Effects on Seedling Quality and Growth of Muskmelon (*Cucumis melo* L.) APCBEE Procedia 8:32–40
31. Nzanza, B., Marais, D., Soundy, P., 2012. Response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to nursery inoculation with *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. Acta. Agr. Scand. B-S P. 62, 209–215.
32. Sensoy, S., Bicer, S. and Unsal, H. 2013. Arbuscular Mycorrhizal Fugi Affect Seedling Growth of Melon Hybrid Cultivars. International Journal Agriculture ＆ Biology. 15 (2):392-394 .
33. Smith, S.E. and D.J.Read.1997. Mycorrhizal symbiosis,2nd ed.London, Uk:Acadeemic Press.pp.605.Smith, G. S. and R. W. Roncadori. 1986 Responses of three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi at four soil temperatures and their effects on cotton growth. New Phytol. 104:89-95.

Studies on Application of Biofertilizers in Production of Organic Muskmelons

Jui-Chang Huang[1,*] and Wen-Jin Jiang[2]

Abstract

Endomycorrhizae has been used is seedling nursery. However, this practice should be supplemented with appropriate amount of fertilizers. Now, no cultural medium or growth medium containing mycorrhiza is available on market. The experiment was attempted to develop appropriate composition of growth medium to low down the supplement of various amount of fertilizers. Results of muskmelon experiments indicated that best infection rate i.e.55.4% of the plants infected mycorrhiza was found in the growth medium containing coconut shell fiber (CSF): vermiculite (V), and the least in the medium with peat moss (PM): V with vermicompost i.e.43.4%. Best growth of muskmelon one month after planting was observed in the medium with PM: V with vermicompost plus inoculation of Gm inoculation, and lowest growth in the medium with CSF: V plus inoculation of Gm inoculation. Best growth of muskmelon one month after planting was observed in the medium with vermicompost plus inoculation of Gm , and without inoculation is the lowest. Another tests also showed that inoculation of Gm increased Ca^{2+} and Mg^{2+} absorption and decreased Na^{+} absorption. If the plants were inoculated, Na^{+} concentration was decreased, It means that inoculation may disturb absorption of Na^{+}. Demonstration areas through inoculation can promote nutrient absorption, reduced sodium ion uptake, if they were compared with the control group, but yields and total soluble solids increased.

Keywords: Biofertilizer; Mycorrhiza; Vermicompost; Organic agriculture; Muskmelon.

---

[*] Corresponding author, e-mail: jchuang@mail.tndais.gov.tw

[1] Associate Researcher, Tainan District Agricultural Research and Extension Station, Tainan, Taiwan, ROC.

[2] Assistant Researcher, Tainan District Agricultural Research and Extension Station, Tainan, Taiwan, ROC.

溶磷菌肥料應用於水芋栽培的方法與成果

蔡正賢[1,*]、吳添益[2]

摘要

由於水芋的養分利用率低，水芋肥料推薦量非常高，使養分回收率偏低，造成肥料投入的浪費。藉由溶磷菌肥料的輔助，提升養分吸收能力，可能比單純使用化學或有機質肥料，更能提升肥料利用。本研究於 2018 年春作水芋分別執行溶磷菌肥料肥功效田間驗證試驗及溶磷菌肥料整合性施肥試驗。肥功效田間驗證試驗使用 2 種市售液態溶磷菌肥料，並依據施肥量及溶磷菌肥料型式分為 9 種處理，整合性施肥試驗則發展溶磷菌肥料與化學肥料及有機質肥料等整合性施肥技術，並確認溶磷菌肥料肥功效。肥功效田間驗證試驗顯示，全量施肥有最高的養分吸收量、生質量及產量，可能是土壤交換性鉀過高，使氮的供應成為限制因子，但是 2/3 肥料用量下，施用其中 1 種溶磷菌肥料活菌處理，養分吸收量、生質量及產量與全量施肥沒有差異，顯示該溶磷菌肥料有助於肥料減量。整合性施肥試驗顯示，在肥料用量相同情形下，施用溶磷菌處理者，地下部根長較對照處理長，地上部莖基寬度、葉長、葉寬及生質量較對照處理高，產量亦高於對照處理，溶磷菌肥料肥功效顯著。溶磷菌肥料應用於水芋栽培，建議土壤肥力應維持平衡，避免養分供應成為限制因子，溶磷菌肥料施用頻率 2 週 1 次，並增加溶磷菌施用次數，可能使肥功效更明顯。

關鍵詞：水芋、溶磷菌、整合性施肥。

前言

台灣芋公頃產量，低產僅 4 Mg，高產可達 35 Mg，平均公頃產量 14 Mg(農業統計年報 2011 年)。除了各地區土壤性質的差異、栽培密度及栽培制度不同之外，

[*] 通訊作者：tsaijh@mdais.gov.tw

[1] 農委會苗栗區農業改良場助理研究員。台灣。苗栗縣。

[2] 農委會苗栗區農業改良場副研究員。台灣。苗栗縣。

水芋的生長期長達 6-8 個月，期間乾物質與光合作用產物累積，以及乾物分配至球莖比例等皆容易受氣候及土壤養分影響 (魏等 1999；De la Pena *etal.*1972)，使得水芋經濟施肥的建議非常難以達成。施用肥料對水芋增產的效應明顯，主要的原因是水芋的養分利用率低 (蔡 2000)，各地區改良場每公頃之氮推薦量約 400-700 kg、磷酐約 100-150 kg、氧化鉀約 200-500 kg (賴等 2012；全和倪 2010)。根據本場研究，雖然土壤有效性磷已高達 56 mg kg^{-1}，施用 300 kg ha^{-1} 的磷酐仍有最高的水芋產量，比上述磷酐推薦量高出 1 倍，然而此等用量下磷酐回收率約只有 4.6 %，造成肥料投入的浪費。藉由溶磷菌肥料的輔助，提升磷之吸收能力 (楊和趙 2008)，可能比單純使用化學或有機質肥料，更能提升肥料利用，並協助農民降低三要素的用量。田間試驗證實磷肥的施用於水芋地上部生長旺盛期即對生質量的增加有影響，且其影響持續至收穫 (蔡和吳 2017)，顯示水芋磷的吸收關鍵期在生長旺盛期之前。為了促成水芋的經濟施肥，本研究於水芋生長初期至生長旺盛期使用溶磷菌，以期增加水芋根部對磷之吸收能力，並強化根部發展，配合肥料減量施用，評估溶磷菌肥料表現出作物產量和土壤改良等方面的效果，以確認其肥功效 (李和沈 2012)，並發展溶磷菌肥料與化學肥料及有機質肥料等整合性施肥技術。

材料與方法

一、溶磷菌肥功效田間驗證試驗

水芋田間試驗採春作，於 2018 年 3 月 1 日定植，試驗田位於公館鄉尖山段，質地為壤土，試驗前之土壤肥力為酸鹼度 7.03、電導度 0.198 ds m^{-1}、有機質含量 27.2 g kg^{-1}、有效性磷含量 44 mg kg^{-1}、交換性鉀含量 250 mg kg^{-1}、交換性鈣含量 2203 mg kg^{-1}、交換性鎂含量 222 mg kg^{-1}。使用 2 種市售液態溶磷菌肥料 (菌劑代號 9 及 7)，分別取適量滅菌，另外依據溶磷菌肥料的氮、磷、鉀成分，以尿素、磷酸一鉀及硫酸鉀配製相同養分濃度之基質進行試驗。分為處理一：全量肥料、處理二：氮磷鉀皆 2/3 用量、處理三：活菌 1 (菌劑代號 9) + 氮磷鉀皆 2/3 用量、處理四：活菌 2 (菌劑代號 7) + 氮磷鉀皆 2/3 用量、處理五：死菌 1 + 氮磷鉀皆 2/3 用量、處理六：死菌 2 + 氮磷鉀皆 2/3 用量、處理七：不施肥、處理八：基質 1 + 氮磷鉀皆 2/3 用量、處理九：基質 2 + 氮磷鉀皆 2/3 用量。每處理 4 重複，每小區約

30 m^2，CRD 設計。試驗田為作畦栽培，各處理可獨立操作而不互相干擾。溶磷菌活菌、死菌及基質溶液皆稀釋 250 倍施用，全量肥料及不施肥處理者，則以等量的水施用。初期每二週施用 1 次，中期每三週施用 1 次，每株施用 250 ml，共施用 4 次。

二、溶磷菌肥料整合性施肥試驗

水芋田間試驗於 2017 年 12 月 30 日定植，試驗田位於公館鄉義民段，質地為壤土，試驗前之土壤肥力為酸鹼度 5.97、電導度 0.128 ds m^{-1}、有機質含量 27.0 g kg^{-1}、有效性磷含量 19 mg kg^{-1}、交換性鉀含量 53 mg kg^{-1}、交換性鈣含量 1126 mg kg^{-1}、交換性鎂含量 223 mg kg^{-1}。使用 1 種市售液態溶磷菌肥料，分為溶磷菌處理與對照處理，兩區以隔板隔離。有機資材的準備，以市售有機質栽培介質添加木黴菌、甲殼素並攪拌均勻，裝袋後澆灌糖蜜(稀釋 300 倍)並調整水分至 60%，每隔 1 週補充水分與糖蜜，約 4 星期後搬運至田間。翻土曬田後，施入土壤，每分地 600 kg，翻耕並淹水 1 週後再整地。化學肥料以本場推薦水芋合理化施肥方法。溶磷菌肥料稀釋 250 倍後噴施於土壤，每二週施用 1 次。

三、調查方法

定植後第 63 d 進行土壤採樣檢測土壤肥力。根數、根長、株高、莖基寬度、葉長及葉幅調查，每小區調查 5 株。芋頭植體重量及養分含量分析，每小區採樣 3 植株。產量調查每小區採集 3 株，每株採 0.04 m^2 面積的土壤與地下莖，採樣後除淨泥土與根後秤其鮮重，並以 25,000 plant ha^{-1} 估計公頃產量。

結果與討論

一、肥功效田間驗證

水芋定植後第 63 d 土壤性質，酸鹼度 6.84 ± 0.35，電導度 0.11 ± 0.01 ds m^{-1}，有機質含量 27.7 ± 1.4 g kg^{-1}，有效性磷含量 58.8 ± 4.3 mg kg^{-1}，交換性鉀含量 133 ± 16 mg kg^{-1}，交換性鈣含量 1895 ± 167 mg kg^{-1}，交換性鎂含量 218 ± 7 mg kg^{-1}。定植後與定植前比較，酸鹼度、電導度、交換性鉀、交換性鈣含量降低，有效性磷

含量提高，有機質及交換性鎂含量變化不大。各處理間的差異不明顯。

以生質量而言，水芋於定植後第 100 d，植株乾重以處理一 (全量肥料) 181 ± 39 g 最高，處理四 (活菌 2 + 氮磷鉀皆 2/3 用量) 166 ± 39 g 次之，處理二 (氮磷鉀皆 2/3 用量) 97 ± 22 g、處理五 (死菌 1 + 氮磷鉀皆 2/3 用量) 111 ± 26 g 以及處理七 (不施肥) 102 ± 27 g 最低。處理三 (活菌 1 + 氮磷鉀皆 2/3 用量) 130 ± 19 g、處理六 (死菌 2 + 氮磷鉀皆 2/3 用量) 125 ± 24 g 以及處理八 (基質 1 + 氮磷鉀皆 2/3 用量) 135 ± 34 g 差異不明顯。

植株養分吸收量如表 1 所示，此時為水芋的生長旺盛期，但是鉀的吸收量明顯偏高，可能抑制氮的吸收。各處理間養分的吸收量以處理一 (全量肥料) 者最高，處理四 (活菌 2 + 氮磷鉀皆 2/3 用量) 次之，處理二 (氮磷鉀皆 2/3 用量) 最低，其餘處理差異不明顯。不施肥處理其植體養分含量為各處理中最高，雖然植株乾重最低，但養分吸收量並非最低，可能與施用基肥有關。全量肥料的養分吸收量最高，與植株乾重最高有關，反應出施用肥料仍是對水芋乾物增加的主要因子，尤其本試驗土壤交換性鉀偏高，氮的用量可能是限制因子，而增施肥料可補充氮。處理四在肥料減量下施用活菌 2 (菌劑代號 7)，植株乾重與養分吸收量僅次於全量肥料，顯示該溶磷菌對養分吸收的肥功效顯著。活菌 1 (菌劑代號 9) 在本次試驗中對養分吸收的肥功效不明顯。

表 1.水芋肥功效驗證試驗第 100 d 各處理植株養分吸收量

Treatment	N	P	K	Ca	Mg
	------------ g plant^{-1} ------------				
1	1.76 ± 0.42 a*	0.67 ± 0.14 a	6.45 ± 1.43 a	1.57 ± 0.39 a	0.29 ± 0.08 a
2	1.04 ± 0.34 c	0.32 ± 0.07 d	3.49 ± 1.01 c	0.71 ± 0.21 c	0.12 ± 0.03 c
3	1.41 ± 0.23 abc	0.47 ± 0.10 bcd	5.38 ± 0.96 ab	1.01 ± 0.36 bc	0.18 ± 0.05 bc
4	1.64 ± 0.32 ab	0.57 ± 0.17 ab	6.26 ± 1.65 a	1.19 ± 0.31 ab	0.23 ± 0.07 ab
5	1.24 ± 0.22 bc	0.40 ± 0.07 cd	4.44 ± 0.85 bc	0.90 ± 0.20 bc	0.16 ± 0.03 bc
6	1.21 ± 0.20 bc	0.44 ± 0.12 bcd	4.84 ± 1.10 abc	0.89 ± 0.19 bc	0.17 ± 0.05 bc
7	1.30 ± 0.34 abc	0.43 ± 0.12 bcd	4.47 ± 1.30 bc	1.04 ± 0.46 bc	0.19 ± 0.07 bc
8	1.50 ± 0.43 ab	0.51 ± 0.14 bc	5.28 ± 1.33 ab	1.18 ± 0.32 ab	0.20 ± 0.06 bc
9	1.24 ± 0.27 bc	0.45 ± 0.09 bcd	4.74 ± 1.17 abc	1.02 ± 0.28 bc	0.18 ± 0.04 bc

* Within column, means followed by the same letters are not significantly different test by LSD at $p < 0.05$.

產量方面 (見表 2)，以處理一 (全量肥料) 產量 12.6 ± 3.6 Mg ha^{-1} 最高，處理四 (活菌 2 + 氮磷鉀皆 2/3 用量) 10.6 ± 1.6 Mg ha^{-1} 次之，其餘處理產量較低，但是差異並不顯著可能與颱風來襲，芋頭進行剪葉措施後，各處理生長勢受到影響。不施肥處理產量 9.6 ± 1.4 Mg ha^{-1} 並非最低，顯示田間施肥仍無法完全隔離。處理四 (活菌 2 + 氮磷鉀皆 2/3 用量) 產量百分率 84.5 %，顯示溶磷菌在肥料減量下對產量仍有幫助。

二、整合性施肥試驗

於定植後第 26 d 及 43 d，調查根數及根長，施用溶磷菌處理者，地下部根數較少，但根長較長 (見表 3)。以土壤養分供應觀點，根長越長，根圈接觸土壤越多，吸收的土壤養分範圍越大，因此施用溶磷菌處理，對作物的生長可能有所幫

表 2. 水芋肥功效驗證試驗各處理產量

Treatment	Yield (Mg ha^{-1})	Index (%)
1	12.6 ± 3.6 a*	100
2	9.1 ± 1.8 bc	72.5
3	10.1 ± 2.5 ab	80.7
4	10.6 ± 1.6 ab	84.5
5	9.8 ± 2.4 ab	78.1
6	8.7 ± 1.6 c	68.9
7	9.6 ± 1.4 ab	76.5
8	9.1 ± 1.7 bc	72.1
9	10.1 ± 1.5 bc	80.1

* Within column, means followed by the same letters are not significantly different test by LSD at $p < 0.05$.

表 3. 水芋整合性施肥試驗田地下部生長比較

Treatment		Root Numbers	Root Length (cm)
26 Days after planting			
	Test	29.9 ± 8.8	10.4 ± 1.7
	Blank	32.2 ± 10.3	9.3 ± 2.3
		ns	*
43 Days after planting			
	Test	46.7 ± 8.1	19.9 ± 3.1
	Blank	56.6 ± 15.1	17.9 ± 4.5
		*	ns

ns means not significantly different test by LSD at $p < 0.05$.
* means significantly different test by LSD at $p < 0.05$.

助。定植後第 80 d 調查地上部性狀，施用溶磷菌處理莖基寬度、葉長及葉寬，皆較對照處理高 (見表 4) ，定植後 160 d，地上部生質量方面，溶磷菌試區亦高於對照處理 (見表 5) ，產量調查亦顯示溶磷菌試區高於對照處理 (見表 6)。

三、溶磷菌施用方法檢討

由整合性施肥試驗結果，顯示水芋採用土壤改良、合理化施肥及應用溶磷菌肥料生產方式，可以改善土壤環境，並促進作物根部生長，最終提升作物產量。但是在肥功效田間驗證試驗中，使用溶磷菌肥料的效果仍然比不上肥料增施，可能是土壤交換性鉀過高，使氮的供應成為限制因子，在使用溶磷菌肥料之前，建議維持土壤適當肥力仍有必要。溶磷菌肥料使用量及次數可以增加，處理四在肥料減量下施用活菌，植株乾重、養分吸收量及產量僅次於全量肥料，顯示溶磷菌

表 4. 水芋整合性施肥試驗田第 80 d 地上部生長比較

Treatment	Shoot width (mm)	Plant height (cm)	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)
Test	41.8 ± 3.3	43.5 ± 3.5	25.1 ± 1.1	21.5 ± 0.9
Blank	39.6 ± 2.8	41.8 ± 2.6	23.4 ± 1.1	20.6 ± 1.0
	*	ns	***	**

ns means not significantly different test by LSD at $p< 0.05$.
*,**,*** means significantly different test by LSD at $p< 0.05$, 0.01, 0.001 respectively.

表 5. 水芋整合性施肥試驗田第 160 d 地上部生質量比較

Treatment	Fresh weight	Dry weight
	------------------------ g	------------------------
Test	1741 ± 205	172 ± 21
Blank	1246 ± 140	138 ± 16
	**	*

*,** means significantly different test by LSD at $p< 0.05$, 0.01 respectively.

表 6. 水芋整合性施肥試驗田收穫期生質量比較

Treatment	Shoot weight	Corm weight
	------------------------ g	------------------------
Test	23.3 ± 6.5	235 ± 29
Blank	12.0 ± 2.7	163 ± 16
	**	**

** means significantly different test by LSD at $p< 0.01$.

的肥功效顯著。本試驗溶磷菌肥料施用，於生長初期 2 週 1 次，生長中期 3 週 1 次，如果頻率改為 2 週 1 次，並增加溶磷菌施用次數，可能使肥功效更明顯。

結論

肥功效田間驗證試驗顯示，全量施肥有最高的養分吸收量、生質量及產量，但是肥料減量 1/3 下，施用活菌 2 (菌劑代號 7) 處理，養分吸收量、生質量及產量與全量施肥沒有差異，顯示該溶磷菌肥料有助於肥料減量。整合性施肥試驗顯示，在肥料用量相同情形下，施用溶磷菌處理者，地下部根長較對照處理長，地上部莖基寬度、葉長、葉寬及生質量較對照處理高，產量亦高於對照處理，溶磷菌肥料肥功效顯著。施用方法檢討上，建議土壤肥力應維持平衡，避免養分供應成為限制因子，溶磷菌肥料施用頻率 2 週 1 次，並增加溶磷菌施用次數，可能使肥功效更明顯。

引用文獻

1. 全中和、倪禮豐。2010。水芋合理化施肥技術。行政院農業委員會花蓮區農業改良場。
2. 李俊、沈德龍。2012。微生物肥料田間試驗設計與效果評價。農業部微生物肥料和食用菌菌種品質監督檢驗測試中心。全國農技推廣網。
3. 楊秋忠、趙震慶。1998。作物土壤微生物肥料的應用手冊。國立中興大學土壤研究所編印。
4. 蔡永暤。2000。施氮對芋植株生長及乾物生產分配之影響。高雄區農業改良場研究彙報。11(2)：22-36。
5. 蔡正賢、吳添益。2017。苗栗地區水芋栽培土壤特性與施肥管理。苗栗區農業改良場研究彙報。6：1-14。
6. 魏夢麗、陳烈夫、呂椿棠、呂秀英。1999。期作間水芋全生育期光合成物質生產之比較。中華農業研究 47(3): 47-64。
7. 賴文龍、郭雅紋、陳玟瑾。2012。臺中地區水芋肥培管理技術。臺中區農業改良場專訊 79：6-10。
8. De la Pena, R. S. and D. L. Plucknett. 1972. Effect of nitrogen fertilization on the growth, composition, and yield of upland and lowland taro (*colocasia esculenta*). Expl. Agric. 8: 187-194.

Methods and Effects of Phosphate-solubilizing Microbial Fertilizers Application at Taro in Paddy Field

Jeng-Hsien Tsai[1,*], Tian-Yih Wu[2]

Summary

The verification field test and the integrated fertilization test of phosphate-solubilizing microbial fertilizers were carried out at taro in paddy field at 2018. Fertilizer verification field test used 2 kinds of commercially available liquid phosphate-solubilizing microbial fertilizers. This field test had 9 treatments according to the rate of fertilizer and phosphate-solubilizing microbial fertilizers type. The integrated fertilization test aim at the development of microbial fertilizer, chemical fertilizer and organic fertilizer integrated fertilization technology, which will help in confirm the effect of phosphate-solubilizing microbial fertilizers. Fertilizer verification field test showed that full rate of fertilization has the highest nutrient absorption, biomass and yield, may caused by the high soil exchange potassium which result in the supply of nitrogen becomes a limiting factor. The treatment of 2/3 rate of fertilization and application of one kinds of phosphate-solubilizing microbial fertilizers, nutrient absorption, biomass and yield are not significant different with full rate of fertilization. The integrated fertilization test showed that under the same fertilizer rate, the root length was longer than that of the control treatment, the shoot width, leave length, leaf width and biomass were higher than that of the control, and the yield was higher than

[*] Corresponding author, e-mail: tsaijh@mdais.gov.tw

[1] Assistant Researcher, Miaoli District Agricultural Research and Extension Station , Miaoli, Taiwan, ROC.

[2] Associate researcher, Miaoli District Agricultural Research and Extension Station , Miaoli, Taiwan, ROC.

that of the control treatment. The application of phosphate-solubilizing microbial fertilizers at taro in paddy field must base on well soil fertility. Increasing in frequency and times of microbial fertilizer application may strengthen the fertilizer effect.

Keywords: taro in paddy field; phosphate-solubilizing microbial fertilizers; integrated fertilization.

臺灣中部地區溶磷微生物肥料肥功效驗證

曾宥綋[1,*]、郭雅紋[2]、陳鴻堂[3]

摘要

本試驗評估溶磷菌對青花菜及玉米生育之肥功效，其中施用半量化學磷肥用量加施溶磷菌 (*Bacillus subtilis*)，青花菜花球鮮重較施用全量化學磷肥、半量化學磷肥重，而於不施磷肥條件下單施溶磷菌，並無法發揮溶磷菌功能而提高花球鮮重。基肥施用牛糞堆肥條件下，不施磷肥搭配澆灌溶磷菌液，其花球鮮重較不施堆肥處理者可增加 116.7 g，溶磷菌於基肥施用堆肥條件下，更具施用效果。另，評估基肥施用 3 種有機質肥料分別搭配澆灌高養分含量之溶磷菌 (*Bacillus safensis*) 商品 (MH)、低養分含量之溶磷菌 (*Bacillus licheniformis*) 商品 (ML) 及不額外澆菌處理，對甜玉米生長之影響。基肥施用羽毛堆肥 (F) 其玉米穗重較基肥施用牛糞堆肥 (COW) 及菜籽粕 (Rap) 處理組佳，且彼此間達顯著差異。其中，額外施用溶磷菌皆可顯著提高玉米穗重、粒重及糖度。基肥施用牛糞堆肥處理組，玉米穗重及粒重以施用 MH 商品最重、施用 ML 商品次之，不施用溶磷菌最差；基肥施用羽毛堆肥之玉米穗重以施用 MH 商品最重，而施用 ML 商品及不施溶磷菌，彼此間無顯著差異，然而，施用 MH 及 ML 皆可較不施溶磷菌處理組，顯著提高玉米粒重；基肥施用菜籽粕處理組，施用 MH 及 ML 商品皆可提高玉米穗重，而施用 MH 商品對提高玉米粒重效果較為顯著。

關鍵詞：溶磷菌、青花菜、甜玉米。

前言

磷為作物生長所需之必要元素，然因磷肥施用至土壤後易形成磷酸鈣、磷酸鋁及磷酸鐵沉澱而降低磷之植物有效性 (Alam and Ladha 2004；Vassilev &

[*] 通訊作者：zengyh@tdais.gov.tw
[1] 農委會臺中區農業改良場助理研究員。台灣。彰化縣。
[2] 農委會臺中區農業改良場助理研究員。台灣。彰化縣。
[3] 農委會臺中區農業改良場助理研究員。台灣。彰化縣。

Vassileva 2003)，若因磷之植物有效性低而大量施用磷肥，則會導致施肥成本增加且造成環境汙染 (Reddy *et al*. 2002) 。溶磷菌可經由產酸、鉗合及氧化還原等作用而溶解難溶性磷 (Chung *et al*. 2005；Gulati *et al*. 2010) ，提高土壤有效性磷含量。本試驗將驗證溶磷菌商品於田間對作物生產之功效。

材料與方法

一、溶磷微生物肥料對青花菜生長效益

本試驗於彰化縣福興鄉進行施用溶磷菌 (*Bacillus subtillis*) 對青花菜生長之影響評估，試驗區前期作物為水稻，試驗之基肥區分成不施用有機質肥料及施用有機質肥料，有機質肥料為市售牛糞堆肥 (N-P_2O_5-K_2O = 2.3-2.7-2)，每公頃施用 10,000 kg 用量，依試驗面積等比例施用於畦面，基肥各化學肥料處理亦施於畦面上，並以無輪式中耕機耕犁入土。化學肥料及溶磷菌處理為，1.施用全量磷肥 (P1)、2.施用半量磷肥加施溶磷菌 (P1/2-M)、3.半量磷肥 (P1/2)、4.不施磷肥，施用溶磷菌 (P0-M) 及 5.不施磷肥 (P0)。化學肥料為 N-P_2O_5-K_2O = 210-100 (半量 50) -180，以硫酸銨、過磷酸鈣及氯化鉀施用，施肥分配率參照作物施肥手冊，微生物肥料以每分地施用 1L 菌液，依稀釋倍率澆灌於作物根系。試驗處理每小區為 20 m^2。試驗於 2017 年 10 月 5 日定植青花菜幼苗 (青花 42，購買自博華種苗)，種植株距 50 cm，採單畦雙行種植，種植後澆灌 500 倍稀釋之溶磷菌，10 月 16 日第一次追施化學肥料、10 月 20 日澆灌 500 倍稀釋溶磷菌液、11 月 1 日第二次追施化學肥料、11 月 15 日第三次追施化學肥料，於 12 月 12 日採收調查。採收時調查株高、地上部植株全株重、花球含支梗重及花球重，並分析花球植體養分。

二、溶磷微生物肥料對甜玉米生長效益

本試驗於臺中區農業改良場進行，試驗區前期作物為水稻，試驗作物為甜玉米 (雪珍)，試驗分成三區，分別為基肥施用 (1) 市售牛糞堆肥 COW (2.3-2.7-2) ，每公頃施用 10,000 kg，依試驗面積換算。(2) 本場自製羽毛堆肥 F (2.3-2.1-1.9)，每公頃施用 10,000 kg，依試驗面積換算。(3) 市售菜籽粕 Rap (7-3-1.5) ，每公頃施用 2,200 kg，依試驗面積換算。每一主區試驗處理如下: (1) 施用高養分之溶磷菌微生物肥料 (*Bacillus safensis*) (MH) (2) 施用低養分之溶磷菌微生物肥料

(*Bacillus licheniformis*) (ML) (3) 不施肥。試驗於 2018 年 3 月 13 日施用有機質肥料於畦面上，並以無輪式中耕機耕犁入土，3 月 15 日播種，採單畦雙行，株距 30 公分，3 月 28 日澆灌溶磷菌液，400 倍稀釋液，每株 250 mL，4 月 13 日及 4 月 26 日澆灌溶磷菌，400 倍稀釋液，每株 500 mL，5 月 29 日採收調查。調查玉米穗長、穗圓周、穗重、粒重及糖度，並分析葉片養分。

結果與討論

一、溶磷微生物肥料對青花菜生長效益

試驗前土壤特性如表 1 所示，土壤偏中鹼性，磷含量低，鈣鎂含量高，施用磷肥與否將顯著影響青花菜生長。青花菜於基肥不施用有機質肥料之採收調查結果如表 2 所示，於不施用磷肥條件下，其株高、全株重及花球重皆顯著較施用全量磷肥及半量磷肥低，顯示低磷土壤含量下，磷肥對青花菜產量影響極大，且於不施磷肥條件下，施用溶磷菌並無法提高青花菜鮮重，顯示於低磷土壤含量下，單就溶磷菌之補充，無法取代磷肥角色。本試驗區，施用全量磷肥與半量磷肥，其植株鮮重並無顯著差異，然而於施用半量磷肥加施溶磷菌，可顯著提高植株含梗之花球鮮重、花球鮮重且 15-20 cm 花球比例有較高趨勢 (表 3) ，顯示，半量磷肥搭配澆灌溶磷菌，對低磷試驗區之青花菜有增產效果，推測，菌株有提高植株磷肥利用率之效果。

表 1. 青花菜試驗前土壤肥力

pH (1:1)	EC (1:5)	OM %	P	K	Ca	Mg	Cu	Mn	Zn	Fe
			---------------------------mg/kg---------------------------------							
7.9	0.28	2.2	4	72	1816	270	10	288	9	1121

表 2. 基肥不施用堆肥之青花菜採收調查

Treatment	Whole plant weight (g)	Edible plant weight (g)	Flower ball weight (g)	Plant height (cm)
P1	1333.1b [z]	484.4b	235.0b	31.3a
P1/2-M	1455.6a	573.0a	293.4a	31.8a
P1/2	1342.5ab	502.7b	235.6b	31.1a
P0-M	1100.8c	339.4c	117.8c	25.4b
P0	1048.8c	302.7c	102.9c	24.4b

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher’s protected LSD test.

花球植體養分分析結果如表 4 所示，不施磷肥植體氮含量最高，施用全量磷肥植體磷含量最高，但不施磷肥搭配澆灌溶磷菌植體磷含量最低，施用全量磷肥及半量磷肥加菌有助於提高植體鉀含量，且與不施磷肥處理組達顯著差異，推測磷肥影響青花菜根系生長及鉀肥吸收，鈣鎂含量於各處理間差異較不顯著。

青花菜於基肥施用牛糞堆肥之採收調查結果如表 5 所示，青花菜全株重於各處理間無顯著差異。經減半磷肥用量或不施磷肥，其花球鮮重較施用全量磷肥有降低趨勢，但並無統計差異。施用半量磷肥加施溶磷菌，其含梗之花球鮮重及花

表 3. 不同肥料處理對青花菜不同花球直徑分佈之影響

Treatment	<5	5-10	10-15	15-20	>20	lack
	%					
P1	12.0b [z]	36.2a	37.9a	10.7ab	0.8a	2.4b
P1/2-M	6.5b	24.4a	43.5a	22.2a	0.0a	3.4b
P1/2	10.8b	31.4a	35.9a	16.1ab	3.0a	2.8b
P0-M	29.8a	32.1a	12.0b	0.0b	0.0a	26.1a
P0	29.7a	38.9a	13.7b	2.2b	0.0a	15.5ab

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 4. 各處理之花球植體養分分析

Treatment	N	P	K	Ca	Mg
	%				
P1	2.9b [z]	0.54a	3.9a	0.66a	0.29ab
P1/2-M	3.1b	0.50ab	3.8ab	0.65a	0.28ab
P1/2	3.0b	0.50ab	3.5bc	0.58a	0.27b
P0-M	3.9a	0.46b	3.4c	0.65a	0.29ab
P0	4.2a	0.48ab	3.3c	0.63a	0.30a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 5. 基肥施用牛糞堆肥之青花菜採收調查

Treatment	Whole plant weight (g)	Edible plant weight (g)	Flower ball weight (g)	Plant height (cm)
CP1	1365.0a [z]	514.5ab	235.0ab	30.7a
CP1/2-M	1403.8a	586.5a	295.5a	47.9a
CP1/2	1618.1a	483.6b	192.7b	30.5a
CP0-M	1335.0a	527.6ab	234.5ab	32.2a
CP0	1365.0a	473.1b	222.8b	29.5a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

球重較施用半量磷肥顯著增加，且為各處理間最重。基肥施用堆肥條件下，各處理間之花球直徑占比並無顯著差異 (表 6) 。

花球植體養分分析結果如表 7 所示，不施磷肥植體氮含量最高，不施磷肥搭配澆灌溶磷菌植體磷含量最低，施用全量磷肥，鉀含量有降低趨勢，施用半量磷肥加菌及不施磷肥處理組，其花球之鈣與鎂含量有較高趨勢。

經比較表 2 及表 5，於施用全量磷肥條件下，基肥施用牛糞堆肥，有助於提高含莖之花球鮮重，由不施堆肥 484.4 g 增加至 514.5 g；不施磷肥搭配澆灌溶磷菌條件下，基肥施用牛糞堆肥，亦有助於提高含莖之花球鮮重，由不施堆肥 339.4 g 增加至 527.6 g。顯示，施用堆肥有助於青花菜生長，也有助於溶磷菌發揮效果。然而，不論基肥是否施用堆肥，於施用半量磷肥搭配澆灌溶磷菌條件下，含莖之花球鮮重彼此間差異相對較小，分別為 570.3 及 586.5 g，因此，若農友於不施堆肥條件下生產青花菜，應可減少化學磷肥用量並搭配澆灌溶磷菌，以提高青花菜生產量。

表 6. 基肥施用牛糞堆肥且於不同肥料處理對青花菜不同花球直徑分佈之影響

Treatment	<5	5-10	10-15	15-20	>20	lack
	------------------------------		%		------------------------------	
CP1	16.0a [z]	29.5a	36.2a	10.4a	0.0a	7.9a
CP1/2-M	11.3a	27.4a	32.8a	17.3a	2.3a	8.9a
CP1/2	13.0a	29.6a	29.2a	21.2a	0.8a	6.2a
CP0-M	17.2a	21.4a	30.1a	15.0a	2.4a	13.9a
CP0	14.7a	21.9a	35.4a	13.4a	0.8a	13.8a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 7. 基肥施用牛糞堆肥之各處理花球植體養分分析

Treatment	N	P	K	Ca	Mg
	------------------------------		%	------------------------------	
CP1	3.1b [z]	0.56ab	3.3b	0.53b	0.25c
CP1/2-M	3.1b	0.59a	3.4ab	0.61a	0.28ab
CP1/2	3.4ab	0.58a	3.4ab	0.51b	0.27bc
CP0-M	3.2b	0.50b	3.4ab	0.52b	0.26bc
CP0	3.6a	0.62a	3.7a	0.54ab	0.30a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

二、溶磷微生物肥料對甜玉米生長效益

玉米種植於基肥施用牛糞堆肥處理組，其玉米穗重及粒重呈現明顯 3 個級距，以施用高養分溶磷菌最佳、施用低養分溶磷菌其次，不施溶磷菌最差。糖度則以有施用溶磷菌較佳 (表 8) 。結果顯示，牛糞堆肥養分含量低，施用低養分溶磷菌商品 (ML) 所提高之玉米穗重，未達市場需求。在低養分含量之牛糞堆肥，搭配施用較高養分含量之溶磷菌商品，對玉米增產效果較佳。玉米葉片養分各處理間無顯著差異 (表 9) 。

玉米種植於基肥施用羽毛堆肥處理組，玉米穗重及粒重以施用高養分含量之溶磷菌效果最佳，然而施用低養分含量之溶磷菌及不施用溶磷菌之處理組，玉米穗重彼此間無顯著差異 (表 10) 。羽毛堆肥之肥分或其養分釋放率或較牛糞堆肥高，因此不施肥條件下，其玉米穗重 (169.5 g) 及粒重 (81.0 g) 較基肥施用牛糞堆

表 8. 基肥施用牛糞堆肥之各處理玉米生育調查

Treatment	Ear length (cm)	Ear circumference (cm)	Ear weight (g)	Grain weight (g)	TSS (°Brix)
COW-MH	17.9a [z]	15.2a	198.8a	128.4a	14.8a
COW-ML	17.2a	14.7a	168.9b	100.1b	15.0a
COW	16.1b	12.5b	122.2c	55.0c	12.7b

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 9. 基肥施用牛糞堆肥之各處理玉米葉片養分

Treatment	N	P	K	Ca	Mg
	-------	-------	%	-------	-------
COW-MH	1.9a [z]	0.25a	1.8a	0.6a	0.2a
COW-ML	1.8a	0.24a	1.7a	0.6a	0.2a
COW	1.8a	0.24a	1.7a	0.6a	0.2a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 10. 基肥施用羽毛堆肥之各處理玉米生育調查

Treatment	Ear length (cm)	Ear circumference (cm)	Ear weight (g)	Grain weight (g)	TSS (°Brix)
F-MH	18.1a [z]	15.5a	201.3a	124.6a	14.2a
F-ML	17.5a	14.9b	183.2b	113.8a	14.6a
F	18.1a	13.8c	169.5b	81.0b	12.9b

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

肥高，然而，於此條件下，仍以施用高養分含量之溶磷菌商品較具增產效果。玉米葉片養分如表 11 所示，葉片鉀含量以施用 MH 較高而施用 ML 較低。

玉米種植於基肥施用菜籽粕處理組，不論施用高養分或低養分含量之溶磷菌商品，玉米穗重皆顯著提升，且彼此間無顯著差異 (表 12) ，顯示，基肥施用高養分之粕類有機質，搭配施用低養分溶磷菌商品，亦有提高玉米生產效能。然而，若考量玉米粒重，仍以施用高養分之溶磷菌商品較佳。玉米葉片養分如表 13 所示，各處理間無顯著差異。

綜合試驗結果顯示，不論基肥施用何種有機質肥料，搭配澆灌溶磷菌皆有增產及提高玉米糖度效果，其中，於基肥施用羽毛堆肥或菜籽粕，搭配澆灌溶磷菌 ML，其玉米穗重結果較為相近，顯示羽毛堆肥於田間肥效與菜籽粕較相近，長期施用堆肥應有助於提高土壤有機質，改善土壤環境，然而於基肥施用牛糞堆肥者，若施用低養分含量之溶磷菌，應考量追施肥料以提高玉米產量。

表 11. 基肥施用羽毛堆肥之各處理玉米葉片養分

Treatment	N	P	K	Ca	Mg
	-------------------------------		%	-------------------------------	
F-MH	1.9a [z]	0.24a	1.8a	0.6a	0.2a
F-ML	1.7a	0.24a	1.6b	0.6a	0.2a
F	1.7a	0.23a	1.7ab	0.6a	0.2a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher’s protected LSD test.

表 12. 基肥施用菜籽粕之各處理玉米生育調查

Treatment	Ear length (cm)	Ear circumference (cm)	Ear weight (g)	Grain weight (g)	TSS (°Brix)
Rap-MH	18.0a [z]	15.1a	195.8a	120.1a	14.3a
Rap-ML	17.8ab	14.6a	182.9a	102.7b	13.9a
Rap	17.1b	12.6b	127.9b	58.0c	11.6b

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher’s protected LSD test.

表 13. 基肥施用菜籽粕之各處理玉米葉片養分

Treatment	N	P	K	Ca	Mg
	-------------------------------		%	-------------------------------	
Rap-MH	2.0a [z]	0.23a	1.7a	0.7a	0.2a
Rap-ML	2.0a	0.24a	1.7a	0.7a	0.2a
Rap	1.9a	0.23a	1.7a	0.8a	0.2a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher’s protected LSD test.

結論

低磷土壤環境中，不施磷肥單施溶磷菌並無效益，然而基肥施用牛糞堆肥於不施磷肥條件下施用溶磷菌具有效益，可提高青花菜花球鮮重，顯示溶磷菌與有機質肥料共同施用效果更佳，此外，不論基肥是否施用堆肥，於半量化學磷肥搭配澆灌溶磷菌，青花菜花球鮮重差異不大，且皆較施用全量磷肥處理組重，顯示，施用溶磷菌可搭配減少化學磷肥用量便具有效益。

玉米試驗結果顯示，基肥施用牛糞堆肥，因肥分較低，單用低養分含量之溶磷菌商品，雖可提高玉米穗重，但未達市場需求，需考量追施肥料，而施用高養分之溶磷菌商品，其玉米穗重最高。基肥施用羽毛堆肥及菜籽粕處理組，施用低養分含量之溶磷菌商品，於玉米穗重或玉米粒重，仍有增產效果。

引用文獻

1. Alam, M. M. and J. K. Ladha. 2004. Optimizing phosphorus fertilization in an intensive vegetable-rice cropping system. Biol. Fertil. Soils 40: 277-283.
2. Chung, H., M. Park, M. Madhaiyan, S. Seshadri, J. Song, H. Cho and T. Sa. 2005. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. Soil Biol. Biochem. 37: 1970-1974.
3. Gulati, A., N. Sharma, P. Vyas, S. Sood, P. Rahi, V. Pathania and R. Prasad. 2010. Organic acid production and plant growth promotion as a function of phosphate solubilization by *Acinetobacter rhizosphaerae* strain BIHB 723 isolated from the cold deserts of the trans-Himalayas. Arch. Microbiol. 192: 975-983.
4. Reddy, M. S., S. Kumar, K. Babita and M. S. Reddy. 2002. Biosolubilization of poorly soluble rock phosphates by *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*. Bioresour. Technol. 84: 187-189.
5. Vassilev, N. and M. Vassileva. 2003. Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes. Appl. Microbiol. Biotechnol. 61: 435-440.

Field Verification of Phosphate-solubilizing Bacteria in Central Taiwan

You-Hong Zeng[1,*], Ya-Wen Kuo[2] and Hong-Tang Chen[3]

Summary

In this experiment, the beneficial effects of applying phosphate-solubilizing bacterium, PSB (*Bacillus subtilis*) in broccoli growth was implemented. Under the condition of applying half amounts of chemical phosphorous fertilizer (CP), drench PSB can significantly increase the fresh weight of flower ball compared with applying full or half amount of CP without applying PSB. However, only drench PSB without applying CP had no beneficial effect in increasing fresh weight of flower ball. Under the condition of applying cow dung compost as base fertilizer, drench PSB without applying CP can increase 116.7 g of fresh flower ball compared with the one without applying cow dung compost. In another experiment, we try to understand the effects of applying three organic fertilizers used as base fertilizer combined with drench of PSB (*Bacillus safensis*) with high nutrient content (MH) or PSB (*Bacillus licheniformis*) with low nutrient content (ML) in sweet maize production. The ear weight planted in soil with feather compost as base fertilizer was significant heavier than planted in soil with cow dung compost or rapeseed meal. No matter what kind of organic fertilizer was applied, additional applying the MH or ML can increase ear weight, grain weight and TSS. In the situation of applying cow dung compost as base fertilizer, the fresh weight

[*] Corresponding author, e-mail: zengyh@tdais.gov.tw

[1] Assistant Researcher, Taichung District Agricultural Research and Extension Station, Changhua, Taiwan, ROC.

[2] Assistant Researcher, Taichung District Agricultural Research and Extension Station, Changhua, Taiwan, ROC.

[3] Assistant Researcher, Taichung District Agricultural Research and Extension Station, Changhua, Taiwan, ROC.

of ear and grain from heavy to light was in the order by applying MH, ML and no applying PSB. Applying feather compost as base fertilizer, the ear weight was highest by applying MH but the grain weight can also be increased by applying the ML. Applying rapeseed meal as base fertilizer, both applying the MH or ML can increase ear weight but only applying the MH can significantly increase grain weight.

Keywords: Phosphate-solubilizing bacteria, Broccoli, Sweet corn.

溶磷菌在玉米生產應用

張耀聰[1*]、張廖伯勳[2]、王瓊慧[3]

摘要

本研究目的在針對市售 2 種溶磷菌，對玉米肥效及整合性施肥應用進行評估。肥效試驗方面：玉米含苞葉穗重及單軸穗重，分別以½施肥量＋滅菌液處理及½施肥量＋菌液處理，顯著高於全量肥料推薦用量處理，在可溶性固形物 (°Brix) 之表現，各處理間無顯著差異。在整合性施肥應用方面：春作於酸性土壤之試驗結果顯示，不施有機肥處理方面，僅單軸穗重½肥料推薦用量＋菌粉處理，顯著優於全量肥料推薦用量處理。在基肥施用稻殼灰炭方面，½肥料推薦用量＋菌粉及菌液 2 個處理，在含苞葉穗重及單軸穗重，均顯著優於全量肥料推薦用量處理。在秋裡作於鹼性土壤之試驗結果顯示，含苞葉穗重及單軸穗重，均以⅔肥料+菌液及全量肥料+菌粉 2 項處理，顯著優於對照組。而在可溶性固形物之表現，2 期作各處理間，均無顯著優於對照組。

關鍵詞：玉米、溶磷菌、生產。

前言

臺灣為農業密集發展之島國，農業發展多數均以小農為主，且在化學肥料普及使用後，長期以來農民過度倚賴化學肥料，使得化學肥料用量居高不下，且用

---

[*] 通訊作者：ytc@mail.kdais.gov.tw
[1] 高雄區農業改良場副研究員。台灣屏東。
[2] 高雄區農業改良場助理研究員。台灣屏東。
[3] 高雄區農業改良場計畫助理。台灣屏東。

肥習慣不易改變已根深蒂固。在化學肥料中，單質肥料三要素之中，以磷肥 (過磷酸鈣) 銷售單價最為便宜，其具有促進作物開花及誘導幼苗根系發育等功用。因此農民為提升作物產量與品質，普遍施用過磷酸鈣等磷肥，提升土壤磷有效性，儼然已成為田間的慣行措施。然而，施入土壤中的磷可能被黏土礦物、有機質、碳酸鈣和鐵鋁氧化物等物質吸附或沉澱，也可能被微生物攝食吸收而固定，這些可能的固定作用會降低土壤磷的有效性，部份吸附和沉澱反應，所造成的磷固定現象，更可能因時間長遠而不再釋出 (Jalali & Ranjbar 2010)。故土壤經長期或大量施用磷肥，會造成磷在土壤表層的累積 (Beauchemin & Simard 2000)，不但土壤總磷量增加，因逕流 (runoff) 造成磷損失移至地表水的量也會升高 (Cox & Hendricks 2000；Davis *et al.* 2005)，進而大幅增加對水質與環境生態的衝擊。

近年來在農委會積極推動友善環境農業資材補助下，自 106 年起逐漸減少對化學肥料補助，而轉向農民選購微生物肥料進行補助，其中市售產品以溶磷菌肥料最為普遍，主因為磷肥易受土壤環境影響，致使作物無法有效利用，因此國內相關產品販售，均以溶磷菌為主。但也因臺灣位處熱帶與亞熱帶交界，不同氣候條件下，土壤性質及土壤固有微生物相影響極劇，無法保證其田間應用具有穩定的肥 (功) 效，致使推動成效受限。且微生物肥料儲架壽命時間比化學肥料短，易受環境高溫影響而變質，常需冷藏以維持其菌種活性。且多數均以提升土壤肥力為主，然而當土壤肥力失衡情況下，微生物肥料未必能表現出其功效，因此微生物肥料配合整合性施肥管理，即成為政策推動發展之關鍵。

玉米 (*Zea mays*) 為一年生禾本科草本植物，原產於中美洲，是全世界總產量最高的重要糧食作物。哥倫布於 1492 年將玉米帶到西班牙後，在 16 世紀即經由海上及陸上途徑，傳播到全世界。16 世紀初期傳入中國，18 世紀傳入臺灣 (黃惠琳 2016)。二百多年前《臺灣府誌》即有記載「番麥狀如黍，實如石榴子，一葉一穗，穗各數百粒」，可知玉米在臺灣栽培年代久遠 (黃惠琳 2016)。玉米亦可當作飼料使用，還有在生物科技產業作為乙醇燃料的原材料。而且玉米更在各個化工領域被大量利用著，做成塑膠等不同的物品。玉米亦為臺灣最大宗之雜糧作物，依據農糧署 106 年統計年報資料顯 (行政院農委會農糧署 2018)，每年約有 3 萬公頃上下之栽培面積，主要分為飼料 (硬質) 玉米及食用玉米兩大類，其中食用玉米

栽培約有 15,215 公頃，產量約 11 萬公噸，為相當重要之雜糧作物。而本研究即以 2 種市售溶磷菌在不同土壤條件下進行田間試驗，以瞭解其在玉米生育之表現，提供農耕工作者實際田間應用參考。

材料與方法

本研究以 2 種市售溶磷菌進行食用玉米肥效評估及整合性施肥應用。實施方法分為 2 個部分如下說明。

一、肥效應用評估：此部分試驗測試 2 種市售溶磷菌肥之肥效結果，在玉米生產上之表現。

1. 作物品種選擇：玉米 (夏強F1品種) 先行播種穴盤中，經培育10天後定植於試驗田區，並以單畦單行方式種植，每25 cm定植1株。
2. 測試菌種選擇：2種市售溶磷菌劑，分別為菌粉 (萬磷丹) 及菌液 (博士肥溶磷菌) 。
3. 施肥評估試驗處理： (1) 推薦施肥量全量。 (2) ½推薦施肥量。 (3) ½推薦施肥量+菌粉。 (4) ½推薦施肥量+菌液。 (5) ½推薦施肥量+高溫滅菌菌粉。 (6) ½推薦施肥量+高溫滅菌菌液。 (7) 完全不施肥。 (8) 完全不施肥+高溫滅菌菌粉。 (9) 完全不施肥+高溫滅菌菌液。
4. 每處理各4重複，每重複數之栽種面積為30 m^2，試驗面積為9處理*4重複*30 m^2 ＝1080 m^2。採RCBD試驗設計處理，溶磷菌澆灌分為定植後1天、15天、30天及45天共四次。
5. 推薦施肥量全量為每30 m^2施用硫酸銨2.38 kg 過磷酸鈣1.39 kg 氯化鉀0.28 kg。
6. 調查處理：收穫時統計其產量等性狀。
7. 土壤分析：試驗前後均進行土壤採樣分析，以瞭解土壤肥力變化情況。

二、整合性施肥應用：此部分分為春作及秋裡作進行試驗。

1. 春作及秋作品種選擇：春作及秋裡作玉米品種分別為夏強F1及雪珍F1品種，依上述方式先行穴盤育苗後，再定植於試驗田區，定植行間距如前述。

2. 土壤分析：試驗前後土壤肥力分析。
3. 施肥處理：依據土壤肥力分析結果，進行微生物肥料、有機質肥料及化學施肥推薦，溶磷菌澆灌方式則依據商品推薦倍數稀釋使用，分為定植當天及之後15天、30天、45天共四次，另以慣行農法施肥量作為對照組， (1) 春作施肥方法，以農民慣行施肥量作為全量肥料推薦用量，施肥方法為基肥時期，使用台肥硝磷基黑旺特1號有機質複合肥料 (N-P_2O_5-K_2O-OM：20-5-10-60) 60 kg/0.1 ha及過磷酸鈣20 kg/0.1 ha，定植20天後追肥，施用台肥硝磷基黑旺特1號有機質複合肥料15kg/0.1ha。 (2) 秋裡作施肥方法，先施用農糧署推薦國產雜項堆肥 (肥料品目：5-11) 1250 kg/0.1 ha，再以農民慣行施肥量作為全量肥料用量，總施肥量為尿素40 kg/0.1ha、過磷酸鈣40 kg/0.1ha及氯化鉀10 kg/0.1 ha，施肥量為基肥及追肥時期各50%，追肥為定植後15天施用。
4. 調查處理：於收穫時統計其產量及品質。

結果

一、肥效應用評估

試驗階段於 107 年春作期間進行，食用玉米品種選擇為夏強，種子播種於穴盤中 10 天後，再定植至試驗田區，並於試驗前後進行土壤肥力分析檢測，以了解土壤肥力變化情形，分析數據如表 1 所示。另依據試驗方法將化學肥料分 2 次進行田間施用，基肥先行施用 50%肥料量後培土作畦，並將穴盤培育之玉米幼苗進行定植，此後 20 天進行另 50%之追肥施用。玉米定植 60 天後，進行收穫調查及試驗後土壤採樣肥力分析，以了解定植後肥力變化情形，由表 1 結果可知，經玉米定植 60 天後，各處理間之土壤 pH 變化均比試驗前土壤降低，且各處理土壤中 EC 值均比試驗前土壤升高。

玉米經定植 60 天後，進行收穫產量調查，農藝性狀調查，量測收穫時之含苞葉穗重及單軸穗重與測定玉米可溶性固形物，以評估各種不同處理對玉米產量及品質影響。並由表 2 調查統計結果可知，在含苞葉穗重方面，則以½肥料推薦用量+滅菌菌液處理顯著優於全量肥料推薦用量，並且為各處理中具有最佳之表現。而單軸穗重方面評估，以½肥料推薦用量+菌液處理有最佳之表現，顯著優於處理 1、

2、4、7、8及9，顯示使用溶磷菌液在½肥料推薦用量下，即可有好的表現，對此證明該菌液具有促進玉米收穫產量之功效。但另一方面，使用½肥料推薦用量+菌粉之處理，則顯示出最差之單軸穗重表現。而在可溶性固形物方面，雖然以不施肥處理有最佳之°Brix，但與其他處理間並不顯著。

表 1. 夏強玉米接種溶磷菌肥效應用試驗前後土壤肥力變化情形.

處理	pH (1:1)	OM (%)	P_1	K_{av}	Ca_{ex}	Mg_{ex}	Fe_{ex}	Mn_{ex}	Cu_{ex}	Zn_{ex}	Na_{ex}	E.C (1:5; µS/cm)
			mg/kg									
玉米未整地試驗前土壤肥力(1070124 採樣)												
表土	6.25	1.20	37	44	1141	96	250	39	5.4	4.5	18	0.13
玉米試驗採收後土壤肥力分析(1070525 採樣)												
1	4.44	1.37	75	125	1533	158	304	100	6.2	6.2	66	0.75
2	4.58	1.50	72	97	1789	253	295	114	5.9	6.0	101	1.07
3	4.52	1.52	79	123	2135	281	333	115	5.9	6.5	110	1.19
4	4.56	1.53	68	129	1820	176	284	78	6.0	6.1	70	0.67
5	4.67	1.33	92	57	1823	138	352	88	6.4	6.4	57	0.51
6	4.75	1.37	61	49	1372	95	326	54	6.5	6.5	51	0.24
7	5.08	1.40	39	93	1707	169	275	59	6.4	6.6	81	0.54
8	5.20	1.54	40	100	2057	360	281	94	6.4	6.2	120	0.61
9	5.86	1.53	37	64	2226	297	299	75	6.2	6.2	97	0.73

註：O.M: organic matter; P_1=Bray No.1; K_{av}=available K; Ca_{ex}, Mg_{ex}, Fe_{ex}, Mn_{ex}, Cu_{ex}, Zn_{ex} and Na_{ex}=HCl extractable 試驗田處理：1.推薦施肥量全量。2. ½推薦施肥量。3. ½推薦施肥量+菌粉。4. 1/2 推薦施肥量+菌液。5. 1/2 推薦施肥量+高溫滅菌之菌粉。6. ½推薦施肥量+高溫滅菌之菌液。7. 完全不施肥。8. 完全不施肥+高溫滅菌之菌粉。9.完全不施肥+高溫滅菌之菌液。

表 2. 夏強玉米接種溶磷菌施肥變級處理收穫調查評估 (n=40)

處理	含苞葉穗重(g)	單軸穗重(g) mean±SE	可溶性固形物(°Brix)
1. 全量肥料推薦用量	253.39±7.19bc[1]	204.31±5.75bc	10.45 ± 0.55a
2. ½肥料推薦用量	214.57±10.47e	180.99±9.69de	11.30 ± 0.56a
3. ½肥料推薦用量+菌液	263.04±4.98ab	220.58±4.29a	11.33 ± 1.59a
4. ½肥料推薦用量+菌粉	217.58±10.31de	172.74±8.89e	12.10 ± 0.31a
5. ½肥料推薦用量+滅菌菌液	275.75±6.09a	217.43±4.60ab	11.83 ± 0.61a
6. ½肥料推薦用量+滅菌菌粉	262.55±7.09ab	214.66±4.24ab	12.20 ± 0.37a
7. 不施肥	236.42±8.80cd	194.85±8.57cd	13.33 ± 0.51a
8. 不施肥+滅菌菌液	249.82±8.95bc	194.43±7.08cd	12.60 ± 0.90a
9. 不施肥+滅菌菌粉	251.49±5.59bc	200.41±5.80bc	13.10 ± 0.54a

註：[1] 同行中小寫英文字母不同者代表差異顯著 ($p \leqq 0.05$) 。

二、整合性施肥應用

(一)春作整合性施肥應用

春作玉米整合性施肥評估，於 107 年 3 月進行，玉米品種選擇為夏強玉米，試驗前仍先進行試驗前土壤肥力測試，及測試試驗結束後之土壤肥力變化情形，其結果如表 3 所示。試驗前土壤 pH 為 5.47 屬於酸性土壤，除有機質含量＞2 以外，其它肥力均屬於常態範圍，因此將試驗分為 7 種不同化學肥料及接種處理別，分別為：1.全量肥料用量；2. ½肥料用量；3. ½肥料用量+菌液；4. ½肥料用量+菌粉；5. 不施肥；6. 不施肥+菌液；7. 不施肥+菌粉。並且在基肥階段又分為不施用有機肥及施用稻殼灰炭 (1ton/0.1ha)，共 2 種基肥處理，以每個組合處理，各 4 個重複小區，每小區定植玉米 20 株，並以基肥階段不施有機質肥料及使用全量肥料推薦用量，作為農民慣行處理組別，並於育苗植株定植田間 60 天後，進行玉米採收產

表 3. 玉米春作整合性施肥試驗前後土壤肥力分析

處理 (表土)	pH (1:1)	OM (%)	P_1	K_{av}	Ca_{ex}	Mg_{ex}	Fe_{ex}	Mn_{ex}	Cu_{ex}	Zn_{ex}	Na_{ex}	E.C (1:5; μS/cm)
			---------- mg/kg ----------									
玉米試驗前土壤肥力(1070301 採樣)												
表土	5.47	1.77	94	245	1535	130	392	108	4.9	4.9	28	0.69
試驗採收後各處理間表土肥力變化 (1.不施有機肥)												
1	3.55	1.61	61	50	1291	84	323	56	4.2	4.6	22	0.51
2	5.06	1.68	58	30	1825	99	313	33	4.5	5.9	25	1.22
3	3.51	1.61	64	64	1636	144	352	90	4.3	5.7	15	0.24
4	4.91	1.46	60	30	1510	65	314	25	4.5	4.5	30	0.57
5	4.29	1.60	64	32	1352	138	308	50	4.4	5.2	22	0.27
6	4.63	1.26	53	23	1195	69	291	32	4.5	4.2	27	0.60
7	5.05	1.34	59	26	1658	123	322	29	4.5	4.4	16	0.66
試驗採收後各處理間表土肥力變化 (2.基肥施用稻殼灰炭 1ton/0.1ha)												
1	3.99	1.68	109	189	1146	65	341	65	4.3	4.5	9.8	0.69
2	4.60	1.45	92	104	1417	62	322	44	4.6	4.7	8.5	0.32
3	4.58	1.68	122	188	2113	227	368	75	4.6	4.7	84	1.21
4	3.77	1.65	98	182	1141	78	367	45	4.5	3.7	17	0.75
5	5.75	1.52	107	89	1218	136	339	53	4.6	5.1	65	0.59
6	6.30	1.53	123	92	2196	223	339	53	4.8	6.3	30	0.93
7	6.04	1.18	101	43	1372	129	291	49	4.8	7.2	24	0.32

註：O.M: organic matter; P_1=Bray No.1; K_{av}=available K; Ca_{ex}, Mg_{ex}, Fe_{ex}, Mn_{ex}, Cu_{ex}, Zn_{ex} and Na_{ex}=HCl extractable 處理別： 1.全量肥料推薦用量；2. ½肥料推薦用量；3. ½肥料推薦用量+菌液；4. ½肥料推薦用量+菌粉；5. 不施肥；6. 不施肥+菌液；7. 不施肥+菌粉。

量調查及試驗後土壤肥力分析。而由表 3 結果顯示，不施有機肥之 7 個處理別中，土壤 pH 均比試驗前低，另外在基肥施用稻殼灰炭接種溶磷菌 (菌液及菌粉) 不施肥處理，其 pH 反而有上升跡象，且在 P 及 K 方面，基肥施用稻殼灰炭於試驗後土壤分析，可看出均比不施有機肥處理者含量更高。

玉米春作整合性施肥評估，經穴盤苗定植 60 天後進行收穫調查，測定各處理間之收穫產量，調查項目為含苞葉穗重及單軸穗重兩項，其結果如表 4 所示。由表 4 結果可知，經在含苞葉穗重及單軸穗重方面調查，在不施有機質肥料處理方面，表現以不施肥+菌液、½肥料用量+菌粉及不施肥+菌粉有較佳之表現，但對於農民慣行施肥處理 (全量肥料用量) ，則差異不顯著。而在基肥施用稻殼灰炭處理方面，含苞葉穗重則以½肥料用量+菌液及½肥料用量+菌粉之處理顯著優於對照組，且亦為 14 個處理中表現最佳之前 2 個處理。在單軸穗重表現方面，各處理間仍以½肥料用量+菌液及½肥料用量+菌粉表現較佳，所有處理中以½肥料用量+菌液表現最好。

另外在品質方面，測定玉米可溶性固形物進行評估，此方面之表現，結果由表 5 可知，在不施有機肥之處理，以½肥料推薦用量+菌粉之表現，顯著優於不施肥+菌液之處理，另外在基肥施用稻殼灰炭之處理方面，則以½肥料推薦用量+菌粉及不施肥等 2 個處理，顯著優於不施肥+菌液之處理，但與對照組間並無顯著差異。

表 4. 春作食用玉米整合性施肥不同施肥處理收穫產量評估 (n=40)

處理別	含苞葉穗重(g)		單軸穗重(g)	
	mean±SE			
	不施有機肥	基肥施用稻殼灰炭	不施有機肥	基肥施用稻殼灰炭
1	216.29 ± 8.96ab[1]	227.82 ± 10.72bc	174.97 ± 8.34b	165.30 ± 12.80bc
2	182.34 ± 13.47bc	216.68 ± 12.23c	150.77 ± 11.97c	173.37 ± 10.60b
3	203.18 ± 8.82b	259.04 ± 9.67 a	173.83 ± 7.72b	198.61 ± 6.13a
4	231.85 ± 5.21a	257.39 ± 9.47a	188.86 ± 5.35a	190.99 ± 6.67a
5	183.53 ± 8.63bc	215.51 ± 10.75c	127.81 ± 10.36d	162.79 ± 9.65bc
6	229.01 ± 4.84 a	197.21 ± 10.84cd	177.66 ± 5.49b	184.14 ± 9.25ab
7	233.32 ± 12.50a	238.36 ± 5.89 b	185.92 ± 9.57ab	179.85 ± 8.19ab

註： [1] 同行中小寫英文字母不同者代表差異顯著 ($p \leq 0.05$)。處理別：1 全量肥料推薦用量 (對照組)；2 ½肥料推薦用量；3 ½肥料推薦用量+菌液；4 ½肥料推薦用量+菌粉；5 不施肥；6 不施肥+菌液；7 不施肥+菌粉

(二)秋裡作食用玉米整合性施肥應用

秋裡作食用玉米整合性施肥應用，於 107 年 10 月進行，食用玉米品種選擇為雪珍 F1 玉米，試驗前仍先進行試驗前土壤肥力測試，及測試試驗結束後之土壤肥力變化情形，其結果如表 6 所示。試驗前土壤 pH 為 7.58 屬於弱鹼性土壤，K 及 Ca 含量偏高，其它肥力均屬於常態範圍，因此亦將試驗分為 7 種不同化學肥料及接種處理別，分別為：1.全量肥料用量 (對照組)；2.全量肥料+菌液；3.全量肥料+菌粉 ；4. ½肥料+菌液；5. ½肥料+菌粉；6. ⅔肥料+菌液；7. ⅔肥料+菌粉。由表 5 土壤分析結果可知，試驗前後土壤肥力方面，Ca 及 Mg 於試驗後，明顯降低，但在 Fe、Mn、Cu、Zn 及 Na 比試驗前提升。

表 5. 春作食用玉米整合性施肥不同處理間可溶性固形物差異比較 (n=40)

處理別	可溶性固形物 (°Brix) mean±SE	
	不施有機肥	基肥施用稻殼灰炭
1. 全量肥料推薦用量 (對照組)	12.00 ± 0.70ab[1]	11.57 ± 1.04ab
2. ½肥料推薦用量	11.53 ± 0.84ab	11.77 ± 0.48ab
3. ½肥料推薦用量+菌液	13.00 ± 0.25ab	12.53 ± 0.64ab
4. ½肥料推薦用量+菌粉	13.80 ± 0.57a	13.57 ± 0.79a
5. 不施肥	13.47 ± 1.84ab	13.43 ± 1.00a
6. 不施肥+菌液	11.10 ± 0.53b	10.63 ± 0.44b
7. 不施肥+菌粉	13.03 ± 0.37ab	11.77 ± 0.26ab

註：[1] 同行中小寫英文字母不同者代表差異顯著 ($p≦0.05$)。

表 6. 秋裡作食用玉米整合性施肥試驗前後土壤肥力分析

處理	pH (1:1)	OM (%)	P_1	K_{av}	Ca_{ex}	Mg_{ex}	Fe_{ex}	Mn_{ex}	Cu_{ex}	Zn_{ex}	Na_{ex}	E.C (1:5; µS/cm)
			mg/kg									
玉米試驗定植前田間表土肥力(1071011)												
表土	7.58	2.70	114	277	5130	337	185	164	14.4	22.5	24	0.30
試驗後各處理田間表土肥力變化(1071214)												
1	7.48	2.75	102	160	3825	177	275	285	25.5	46.5	81	0.21
2	7.42	2.66	115	205	3501	160	303	287	24.8	38.5	84	0.20
3	7.56	2.31	101	213	3640	141	302	281	28.8	30.8	69	0.28
4	7.63	2.53	105	171	3504	157	313	330	26.3	43.3	80	0.18
5	7.69	2.63	124	127	3624	160	289	301	24.3	38.8	74	0.16
6	7.55	2.54	98	165	3971	176	278	290	24.3	40.5	86	0.19
7	7.35	2.34	121	288	3351	154	268	281	32.8	30.5	101	0.29

註：O.M: organic matter; P_1=Bray No.1; K_{av}=available K; Ca_{ex}, Mg_{ex}, Fe_{ex}, Mn_{ex}, Cu_{ex}, Zn_{ex} and Na_{ex}=HCl extractable 處理別：1.對照組 ；2.全量肥料+菌液 ；3.全量肥料+菌粉 ；4. ½肥料+菌液；5. ½肥料+菌粉；6. ⅔肥料+菌液；7. ⅔肥料+菌粉。

秋裡作食用玉米整合性施肥應用，經穴盤苗定植 60 天後進行收穫調查，測定各處理間之收穫產量，調查項目為含苞葉穗重及單軸穗重兩項，其結果由表 7 可知，經在含苞葉穗重方面調查，以⅔肥料+菌液及全量肥料+菌粉兩個處理有最佳之表現，顯著優於全量肥料用量 (對照組) 之處理。在單軸穗重表現方面，仍以⅔肥料+菌液有最佳之表現，而所有處理中，亦以⅔肥料+菌液及全量肥料+菌粉兩個處理，顯著優於全量肥料用量 (對照組) 之處理。但在品質方面，各處理間可溶性固形物並無顯著差異。

討論

一、肥效應用評估

此試驗田區前期作為休耕田區，雜草相豐富，經由試驗前翻耕整地，使土壤中有機質含量提升。但也因有機質含量提升，當其分解後產生酸類物質 (如 H_2SO_4、HNO_3 等等)，能溶解礦物質或分解礦物質，使其釋放出許多鹽基離子，可提供作物利用 (郭魁士 1997)，因此試驗後土壤鹽基離子濃度明顯提升。此外，收穫階段(5 月中旬)，南部地區氣溫已偏高，當土壤溫度達 30℃左右，土壤中的硝化細菌將開始活躍，有利於有機物的分解，因而使土壤中氮素釋出 (古明萱 2007)，加上此次試驗，化學肥料氮素來源選擇硫酸銨，易溶於水產生 NH_4^+及 SO_4^{2-}，而硫酸銨之 NH_4^+可經作物吸收或進行硝化作用，若被植物吸收，則會釋放 1 個 H^+，此即表示，在土壤中來自硫酸銨的 1 個 N 直接產生½個 H_2SO_4，若進行硝化作用，可

表 7. 秋裡作食用玉米整合性施肥接種溶磷菌肥料變級處理收穫調查評估 (n=40)

處理	含苞葉穗重(g)	單軸穗重(g)	可溶性固形物 (°Brix)
	mean±SE		
1. 全量肥料用量 (對照組)	268.30±17.29bc[1]	232.39±15.93 cd	11.05 ± 0.44 a
2. 全量肥料+菌液	254.38±20.45 c	225.12±20.20 d	11.03 ± 0.28 a
3. 全量肥料+菌粉	299.11±13.76 a	263.17±13.22 ab	11.13 ± 0.29 a
4. ½肥料+菌液	259.02±17.29 c	223.68±16.35 d	11.40 ± 0.24 a
5. ½肥料+菌粉	288.63±16.89 ab	256.31±14.66 bc	11.65 ± 0.34 a
6. ⅔肥料+菌液	310.59± 7.47 a	273.22± 8.28 a	11.58 ± 0.21 a
7. ⅔肥料+菌粉	267.28±13.80bc	237.42±13.64cd	11.23 ± 0.54 a

註：[1] 同行中小寫英文字母不同者代表差異顯著 ($p \leqq 0.05$)。

產生 2 個 H^+，但作物以 NO_3^+吸收時，會釋放的 1 個 OH^-中和，因此又會產生 1 個 H^+ (Reuss & Johnson 1986)，此舉也是造成試驗後土壤酸化之主因。

產量及品質調查，含苞葉穗重部分，½肥料推薦用量+滅菌菌液、½肥料推薦用量+滅菌菌粉及½肥料推薦用量+菌液，比對照組全量肥料推薦用量處理有較佳之表現，但僅½肥料推薦用量+滅菌菌液與對照組間具顯著差異，再由表 1 試驗後土壤進行比對，該處理土壤 P 含量比起其他各個處理間，亦有較高之含量。另外由含苞葉穗重及單軸穗重方面進行比較，若玉米不施肥及施用½肥料推薦用量情況下，施用滅菌之菌液及菌粉處理，含苞葉穗重均比不施肥及½肥料推薦用量處理者有些許優勢，主要為菌液及菌粉基質本身能提供作物少量養分，其中以菌粉基質養分含量，由產品標示顯示比菌液還高，但在此方面½肥料推薦用量+菌液與½肥料推薦用量+菌粉之處理間即有顯著差異，且在本次酸性土壤試驗中，½肥料推薦用量+菌液在含苞葉穗重及單軸穗重均顯著高於全量肥料推薦用量，顯示在酸性土壤中玉米接種本次試驗之溶磷菌液，即可達到良好之產能收益。但在可溶性固形物方面，各處理間均無顯著差異。

P 是植物生長發育必須的大量元素，是核酸、植素和卵磷脂的組成成分，在能量、糖分代謝、酶促反應和光合作用等過程中起著重要作用，李銀水等人 (2011)，亦在種植油菜土壤增施 P 肥用量的試驗中，也再次印證土壤中增加 P 含量，可提升作物產能。

二、整合性施肥應用

春作整合性施肥應用，亦選擇酸性土壤進行試驗，在不施基肥之各處理，試驗後土壤均比試前土酸化，主要如前揭酸化原因所述，此外春作試驗玉米栽種過程，畦面均敷蓋黑色塑膠布防治雜草，致使土壤溫度升高，此舉使硝化作用反應加速，造成土壤酸化，且土壤 P 含量均明顯低於試驗前土壤，此部分主要原因為酸性環境下磷易於被鐵鋁氧化物固定，在早期的研究報告已顯示 (Ryan *et al.* 1985)，鐵鋁氧化物對磷的吸附速率快，是磷被固定的主因。而在基肥階段施用稻殼灰炭之各處理，僅在不施化肥的 3 個處理，土壤 pH 有些許提升，其他施用化肥的各處理，土壤亦如上述結果，均呈現酸化。由於稻殼灰炭為 700℃以上高溫燒製

之鹼性材料(pH 10.45)，因此在不施用化肥情況下，仍維持土壤 pH 值而不酸化。由於生物材料隨熱解溫度提升 pH 值也隨之增加，主要的原因可能與灰分有關，而灰分的主要組成物質為 Na、K、Ca、Mg (Sistani ＆ Novak 2006; Singh *et al*. 2010)，此為作物生長必須之鹽基離子。而稻殼材料本身不具木質素，僅具有纖維素、半纖維素、蛋白質及脂類有機碳等，經炭化過程所產生之鹼性，為原作物殘體中所含金屬元素之氧化物性質，一旦被溶解吸收後就無此特性，因此在土壤中皆無法長存。

在產量及品質方面，基肥階段不施有機肥，在含苞葉穗重及單軸穗重方面，以不施肥+菌液、½肥料用量+菌粉及不施肥+菌粉處理，比對照組有較佳之表現，其間雖無顯著差異，但卻可大量節省化學肥料施用。而在基肥階段施用稻殼灰炭處理之表現，均以½肥料用量+菌液及½肥料用量+菌粉處理顯著優於對照組。所有處理中以基肥階段施用稻殼灰炭½肥料用量+菌液表現最好，且在單軸穗重方面比不施有機肥之全量肥料用量處理提升了 13.5%，顯示酸性土壤中，適當配合土壤理化性質，改良土壤微環境，並配合溶磷菌使用等施肥管理措施，可有效提升玉米收穫產能，並可節省化學肥料施用量。但在可溶性固形物方面，各處理間與對照組差異並不顯著。

秋裡作整合性施肥應用，選擇鹼性土壤進行試驗，試驗前後各處理間土壤 pH 變化不大，均呈現弱鹼性，且在植體所需之微量要素 (Fe、Mn、Cu 及 Zn) 方面，試驗後土壤之含量，均有提升現象，主因為基肥階段，選擇施用動物下腳料發酵為主之高氮比例雜項堆肥，而對鹼性和石灰質土壤而言，可藉由酸性物質、有機質或堆肥以提升土壤磷有效性 (Alvarez et al. 2004)，並可改善微量元素有效性偏低的問題，其主要的機制是藉由增加土壤酸性，促進鈣-磷沉澱物的溶解度、溶解石灰物質或改變表面電荷 (Shuai & Zinati 2009)。秋裡作產量品質方面，含苞葉穗重及單軸穗重表現，均以⅔肥料+菌液及全量肥料+菌粉等 2 個處理，顯著優於全量肥料用量 (對照組) 之處理。但在可溶性固形物表現上，各處理間差異不顯著。由此顯示在鹼性土壤中，施用溶磷菌粉，可減少 1/3 化學肥料施用量，並提升玉米單軸穗重產能達 17.6%。

引用文獻

1. 古明萱 2007 作物田間技術。農業推廣手冊40。國立屏東科技大學農業推廣委員會。
2. 行政院農業委員會農糧署 2018 106年農業統計年報。台北。台灣。
3. 李银水、鲁剑巍、廖星、邹娟、李小坤、余常兵、马常宝、高祥照 2011 磷肥用量对油菜产量及磷素利用效率的影响。中国油料作物学报33 (1)：052-056
4. 黃惠琳 2016 臺灣硬質玉米栽培管理技術。臺南區農業改良場技術專刊105-2 (No.163)32pp.。
5. 郭魁士 1997 土壤學 (修訂八版)。中國書局印行。801 pp.。
6. Alvarez R., Evans L. A., Milham P. J. and M. A. Wilson. 2004. Effects of humic material on the precipitation of calcium phosphate. Geoderma, 118: 245-260.
7. Beauchemin S. and R. R. Simard. 2000. Phosphorous status of intensively cropped soils of the St. Lawrence lowlands. Soil Sci. Soc. Am. J., 64: 659-670.
8. Cox F. R. and S. E. Hendricks. 2000. Soil test phosphorous and clay content effects on runoff water quality. J. Environ. Qual., 29: 1582-1586.
9. Davis R. L., Zhang H., Schroder J. L., Wang J. J., Payton M. E. and A. Zazulak. 2005. Soil characteristics and phosphorous level effect on phosphorous loss in runoff. J. Environ. Qual., 34: 1640-1650.
10. Jalali M. and F. Ranjbar. 2010. Aging effects on phosphorous transformation rate and fractionation in some calcareous soils. Geoderma, 155: 101-106.
11. Reuss, J.O. and D. W. Johnson. 1986. Acid Deposition and the Acidification of Soils and Waters. Springer-Verlag New York. 59：26-31.
12. Ryan J., Hasan H. M., Baasiri M. and H. S. Tabbara. 1985. Availability and transformation of applied phosphorus in calcareous Lebanese soils. Soil Sci. Soc. Am. J., 49:1215-1220.
13. Shuai X. and G. Zinati. 2009. Proton charge and adsorption on humic acid and phosphate on goethite. Soil Sci. Soc. Am. J., 73: 2013-2020.
14. Singh, B., B. P. Singh, and A. L. Cowie. 2010. Characterisation and evaluation of biochar for their application as a soil amendment. Soil Research 48(7): 516-525.
15. Sistani, K. R., and J. M. Novak. 2006. Trace metal accumulation, movement and remediation in soils receiving animal manure. In: Prasad, M. N., K. S. Sajwan, and R. Naidu (Eds.) Trace Elements in the Environment, Biogeochemistry, Biotechnology, and Bioremediation, Boca Raton: CRC Press, 689-706.

Applications of Phosphorus Solubilizing Bacteria in *Zea mays* Production

Yao-Tsung Chang[1*], Po-hsun Chang Liao[2], Chiung-hui Wang[3]

Summary

The purpose of this study was to evaluate the effects of corn fertilization and integrated fertilization on two commercially available phosphate solubilizing bacteria.

The fertilizer efficiency test showed that: The ear weight and uniaxial ear weight of maize were treated with 1⁄2 fertilization amount + sterilizing solution and 1⁄2 fertilization amount + bacterial liquid treatment, which was significantly higher than the recommended dosage of whole fertilizer. There was no significant difference between the treatments at °Brix. The integrated fertilization application showed that: Spring was tested in acidic soil, and no organic fertilizer treatment was applied. Only uniaxial ear weight 1⁄2 fertilizer recommended dosage + bacterial powder treatment, significantly better than the total amount of fertilizer recommended treatment. In the application of rice husk ash biochar in base fertilizer, the recommended dosage of ½ fertilizer + bacterial powder and bacterial liquid treatment, the weight of glutinous leaves and the weight of uniaxial ears were significantly better than the recommended dosage of whole fertilizer. Test for alkaline soil in autumn: In the weight of glutinous tassel and uniaxial

[*] Corresponding author, e-mail: ytc@mail.kdais.gov.tw
[1] Associate Researcher, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, COA, Pingtung, Taiwan, ROC.
[2] Assistant Researcher, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, COA, Pingtung, Taiwan, ROC.
[3] Research Assistant, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, COA, Pingtung, Taiwan, ROC.

ear weight, it was treated with ⅔ fertilizer + bacterial liquid and full fertilizer + bacterial powder, which was significantly better than the control group. Performance at °Brix showed that: There was no significant difference between the two treatments in the treatments.

Key words: *Zea mays*, Phosphate-solubilizing bacteria, Produce.

固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp.菌劑對有機水稻秧苗及植株生育影響之研究

張明暉[1,*]、簡宣裕[2]、鄭金滿[3]

摘要

本研究於一期和二期作水稻秧苗育苗過程分別接種稀釋 10^2 倍、10^3 倍及 10^4 倍等液態固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp.菌劑，以未施用菌劑為對照處理，評估該菌劑對秧苗生育效益；及探討有機水稻每公頃施用 150 kg、100 kg 及 75 kg 氮素之有機質肥料，並施用稀釋 10^2 倍菌劑對植株生育的影響。秧苗試驗結果顯示：一期作施用菌劑處理之秧苗根長皆明顯大於未施用菌劑處理；田間試驗結果顯示：一期作每公頃施用 75 kg 氮素之有機質肥料及未施用有機質肥料，並施用菌劑處理之株高分別為 112 cm 與 104 cm，高於未施用菌劑之對照處理 (108 cm 與 100 cm)。另施用菌劑處理之分蘗數與穗數亦顯略高於未施用菌劑處理的趨勢。除此，每公頃施用 75 kg 氮素之有機質肥料並施用菌劑處理者之每欉稻稈乾重為 57 g，高於未施用菌劑處理者 (49 g)；二期作每公頃施用 150 kg 氮素之有機質肥料並施用菌劑處理之株高為 98 cm，顯著高於未施用菌劑處理 (93 cm)。每 100 欉稻穀乾重為 3.43 kg 顯著高於未施用菌劑處理 (3.15 kg)，相當於每公頃乾稻穀重為 5.01 ton，比未施用菌劑處理增加 9.1%。

關鍵詞：固氮螺旋菌、有機水稻、菌劑。

前言

固氮螺旋菌 (*Azospirillum* spp.) 為植物生長促進菌 (Plant-growth-promoting bacteria, PGPB) 的一種，不僅具有固氮作用，可減少氮肥施用。亦可分泌 IAA

[*] 通訊作者：mhchang@tari.gov.tw
[1] 農委會農業試驗所農業化學組助理研究員。台灣。台中市。
[2] 農委會農業試驗所農業化學組前研究員。台灣。台中市。
[3] 農委會農業試驗所農業化學組計畫助理。台灣。台中市。

(Indole-3-acetic acid)、GA (Gibberellin) 及 Cytokinin 等植物荷爾蒙，促進根系生長。及產生細菌素 (Bacteriocins) 與鐵載體 (Siderophores)，並可誘導植物根部產生類黃酮 (Flavonoids) 與酚類化合物 (Benzoxazinoids) 等植物二次代謝產物，具有抗病的效用，可應用於生物防治 (Rodrigues et al., 2015)。過去很多文獻報告指出 *Azospirillum* spp.可增加促進作物生長及產量 (Okon and Labandera-González, 1994)，並可促進植物根部的鬚根分支的發育而增加根部的接觸面積，進而促進養分及水分的吸收，增加抗旱能力 (Bashan and Holguin,1997; Bashan and de-Bashan, 2010)。目前以 *A. brasilense* 及 *A. lipoferum* 最常被研究與了解；研究亦發現 *Azospirillum* spp.可於 100 種植物根部協同共生,可促進植物生長及產量 (Fabricio et al., 2016)，可與水稻、玉米高粱、小麥及小米等世界的主要糧食作物共生，為重要的微生物肥料 (Sivasakthivelan et al., 2013)。目前很多國家都已有商品化產品，如巴西、阿根廷、德、法、美國及印度等 (Rodrigues et al., 2015)，但在我國尚無此類商品化產品。*Azospirillum* spp.與禾本科植物的根部協同固氮共生 (Pedrosa and Yates, 1984)，但不會形成根瘤，其生長於根的表皮或皮層細胞間隙 (Reinhold et al., 1986)，亦可以游離而非共生方式普遍分布於土壤 (http://microbiology.scu.edu.tw/MIB/micro/bacteria/A13.htm; Döbereiner and Pedrosa, 1987)。

本研究目的在於評估具有固氮效率、分泌促進植物生長物質及可與作物根部形成協同共生功能之固氮螺旋菌 *Azospirillum* spp. 菌劑對有機水稻秧苗及植株生育的影響。

材料與方法

固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp. 菌劑對有機秧苗生育影響之探討

以水稻品種台農 84 號為稻種，分別於一與二期作於秧苗盤進行秧苗試驗，於稻種及秧苗生育期接種 *Azospirillum* sp.不同稀釋濃度液態菌劑 (10^{-2}、10^{-3}、10^{-4})，並以接種等量稀釋 100 倍不含 *Azospirillum* sp. 之空白液態培養基為對照，4 種處理。即將稻種分別浸入上述不同稀釋濃度菌劑中，經 8 小時後取出瀝乾，進行催芽，播種於裝有土壤之秧苗盤，於秧苗生育期間再追施不同處理菌劑，於秧苗定植插秧前調查株高、根長、葉數及進行植體分析。

評估秧苗接種 *Azospirillum* sp. 液態菌劑對田間水稻生育之影響

選取接種 *Azospirillum* sp 稀釋 100 倍 (10^{-2}) 菌劑之秧苗，以未施用菌劑為對照處理，定植於農試所 21 號試驗田區進行一、二期作田間水稻試驗，生育期間並追施相同稀釋濃度菌劑。肥料施用處理分別為每公頃施用相當於含 150 kg、100 kg 及 75 kg 氮素之有機質肥料 (基肥施用牛糞堆肥，追肥施用菜子粕)，並以未施用有機質肥料為對照處理，8 種處理，3 重複，試驗設計採逢機完全區集設計 (RCBD)，每處理面積約 31.5 m^2，種植行株距 25 × 25 cm，於生育期間進行株高、分櫱數、穗數及每株稻稈乾重等生育調查。試驗處理分別為：

處理 1：肥料施用量為 150 kg N ha^{-1}，施用菌劑
處理 2：肥料施用量為 100 kg N ha^{-1}，施用菌劑
處理 3：肥料施用量為 75 kg N ha^{-1}，施用菌劑
處理 4：肥料施用量為 0 kg N ha^{-1}，施用菌劑
處理 5：肥料施用量為 150 kg N ha^{-1}，未施用菌劑
處理 6：肥料施用量為 100 kg N ha^{-1}，未施用菌劑
處理 7：肥料施用量為 75 kg N ha^{-1}，未施用菌劑
處理 8：肥料施用量為 0 kg N ha^{-1}，未施用菌劑

結果與討論

固氮螺旋菌 *Azospirillum* sp. 菌劑對有機秧苗生育影響之探討

水稻秧苗育苗試驗土壤之肥力分析結果顯示，土壤、 pH 為 7.39，電導度為 1.72 ds m^{-1}，有效性氮、磷、鉀含量分別為 120 mg kg^{-1}、16 mg kg^{-1} 及 84 mg kg^{-1} (表 1)。一期及二期秧苗試驗所使用之 *Azospirillum* sp. 經液態培養後測定之菌濃度分別為 10^8 CFU mL^{-1} 和 10^9 CFU mL^{-1}，結果顯示：一期作施用菌劑處理秧苗之根長皆明顯大於未施用菌劑處理，差異達顯著。其他施用菌劑處理之秧苗株高、根長、葉數及秧苗乾重與對照處理無明顯差異 (表 2 與表 3)；一、二期作水稻插秧前秧苗植體分析結果亦顯示，除二期作未施用菌劑處理之氮素含量略高於施用菌劑處理，其他施用菌劑處理與未接菌劑之對照處理無明顯差異 (表 4)。

表 1. 水稻秧苗育苗土壤之化學性質

Table 1. Chemical properties of rice seedling nursery soil

pH (1:1, w/v)	EC (1:5, w/v)	Available N	Available P	Exchangeable K	Exchangeable Ca	Exchangeable Mg
	dS m^{-1}	mg kg^{-1}				
7.39	1.72	120	16	84	2224	169

表 2. 一期作插秧前秧苗株高、根長及葉數比較

Table 2. Comparison of the height, root length and leave number of rice seedling before transplanted to the field in the first crop

處理	秧苗高度 (cm)	秧苗根長 (cm)	秧苗葉數 (no.)
稀釋 100 倍菌劑	10.8 a	7.7 a	2 a
稀釋 1000 倍菌劑	11.1 a	7.2 ab	2 a
稀釋 10000 倍菌劑	10.3 a	8.3 a	2 a
未施用菌劑	10.9 a	5.7 b	2 a

表 3. 二期作水稻插秧前秧苗株高、根長、葉數及乾重比較

Table 3. Comparison of the height, root length , leave number and weight of rice seedling before transplanted to the field in the second crop

處理	秧苗高度 (cm)	秧苗根長 (cm)	秧苗葉數 (no.)	秧苗乾重 (mg/seedling)
稀釋 100 倍菌劑	8.8 a	8.2 c	2 a	18.3 a
稀釋 1000 倍菌劑	9.1 a	9.3 b	2 a	19.3 a
稀釋 10000 倍菌劑	8.8 a	10.2 ab	2 a	20.8 a
未施用菌劑	8.9 a	10.5 a	2 a	20.5 a

表 4. 一期和二期作水稻插秧前秧苗植體分析比較

Table 4. Comparison of plant analysis of rice seedling before transplanted to the field in the first and second crop

處理	氮	磷	鉀	鈣	鎂
	%			mg kg^{-1}	
一期作					
稀釋 100 倍菌劑	1.89±0.04	0.43±0.00	1.31±0.05	7972±447	3278±84
稀釋 1000 倍菌劑	1.89±0.02	0.42±0.01	1.41±0.10	7991±796	3184±160
稀釋 10000 倍菌劑	1.97±0.08	0.46±0.02	1.30±0.01	7972±414	3508±218
未施用菌劑	1.88±0.03	0.44±0.02	1.44±0.06	8053±475	3302±89
二期作					
稀釋 100 倍菌劑	1.84±0.18	0.49±0.02	1.29±0.05	6585±472	3183±63
稀釋 1000 倍菌劑	1.87±0.06	0.52±0.01	1.39±0.05	7276±25	3426±1
稀釋 10000 倍菌劑	2.12±0.06	0.45±0.03	1.42±0.02	6919±298	3217±221
未施用菌劑	2.23±0.16	0.47±0.02	1.52±0.02	6148±680	3107±275

評估秧苗接種 *Azospirillum* sp. 液態菌劑對田間水稻生育之影響

一期作水稻試驗前之田區表土 0-15 cm 之肥力分析結果顯示，土壤 pH 為 6.41，電導度為 0.16 ds m^{-1}，有效性氮、磷、鉀含量分別為 24 mg kg^{-1}、75 mg kg^{-1} 及 115 mg kg^{-1} (表 5)。一期作收割時因受鳥害影響，農藝性狀調查株高、分蘖數、穗數及每欉稻稈乾重，試驗結果顯示：一期作每公頃施用 75 kg 氮素之有機質肥料及未施用有機質肥料，並施用菌劑處理之株高分別為 112 cm 與 104 cm，高於未施用菌劑之對照處理 (108 cm 與 100 cm)；分蘖數則每公頃施用 150 kg、75 kg 氮素之有機質肥料及未施用有機質肥料，並用菌劑處理分別為 20 支、20 支及 18 支，略高於未施用菌劑之對照處理 (18 支、18 支及 16 支)；穗數則每公頃施用 150 kg、75 kg 氮素之有機質肥料及未施用有機質肥料，並用菌劑處理分別為 18 支、18 支及 15 支，略高於未施用菌劑之對照處理 (16 支、17 支及 13 支)；而每公頃施用 75 kg 氮素之有機質肥料並施用菌劑處理者之每欉稻稈乾重為 57 g，高於未施用菌劑處理者 (49 g) (表 6)。二期作每公頃施用 150 kg 氮素有機質肥料並施用菌劑處理

表 5. 水稻試驗前田區表土之化學性質

Table 1. Chemical properties of topsoil and subsoil sampled before rice experiment

pH (1:1, w/v)	EC (1:5, w/v) ds m^{-1}	Organic matter %	Available N	Available P	Exchangeable K	Exchangeable Ca	Exchangeable Mg
			---- mg kg^{-1} ----				
6.41	0.16	2.70	24	75	115	934	182

表 6. 一期作水稻施用菌劑不同處理對水稻農藝性狀之影響

Table 6. Effects of different treatments applying *Azospirillum* sp. inoculum on the agronomic characteristics of rice in the first crop

處理	株高 (cm)	分蘗數 (no.)	穗數 (no.)	每欉稻稈乾重 (g)
1. (150 kg ha^{-1}, inoculated)	113 a [z]	20 a	18 a	57 a
2. (100 kg ha^{-1}, inoculated)	110 abc	17 a	16 ab	55 ab
3. (75 kg ha^{-1}, inoculated)	112 ab	20 a	18 a	57 a
4. (0 kg ha^{-1}, inoculated)	104 cd	18 a	15 ab	44 b
5. (150 kg ha^{-1}, uninoculated)	115 a	18 a	16 ab	55 ab
6. (100 kg ha^{-1}, uninoculated)	110 abc	18 a	17 ab	55 ab
7. (75 kg ha^{-1}, uninoculated)	108 bc	18 a	17 ab	49 ab
8. (0 kg ha^{-1}, uninoculated)	100 d	16 a	13 b	44 b

[z] Means within a column followed with the same letters are not significantly different at 5% level by LSD test.

之株高為 98 cm，高於未施用菌劑處理 (93 cm)，差異達顯著 (表 7)。每 100 欉稻穀乾重為 3.43 kg 亦顯著高於未施用菌劑處理 (3.15 kg)，相當於每公頃乾稻穀重為 5.01 ton， 比未施用菌劑處理者增加 9.1%。

結論

固氮螺旋菌 *Azospirillum* spp. 為友善環境耕作及有機栽培具有發展潛力的微生物肥料，雖然本試驗部分結果顯示該菌劑對有機水稻秧苗及植株生育影響之差異不顯著而未如預期。但於一期作插秧前施用菌劑處理秧苗根長皆明顯大於未施用菌劑處理，差異達顯著；另，於二期作每公頃施用 150 kg 氮素之有機質肥料並施用菌劑處理之株高為 98 cm，高於未施用菌劑處理 (93 cm)，差異達顯著。且每 100 欉稻穀乾重為 3.43 kg 亦顯著高於未施用菌劑處理 (3.15 kg)，相當於每公頃乾稻穀重為 5.01 ton，比未施用菌劑處理者增加 9.1%。顯示 *Azospirillum* sp. 菌劑對有機秧苗及水稻生育仍具有潛在效益，需對其作用機制再作探討及精進施用技術。

表 7. 二期作水稻施用菌劑不同處理對水稻農藝性狀之影響

Table 6. Effects of different treatments applying *Azospirillum* sp. inoculum on the agronomic characteristics of rice in the second crop

處理	株高 (cm)	分蘗數 (no.)	穗數 (no.)	每100欉稻穀乾重 (kg)	每公頃稻穀乾重 (ton ha^{-1})
1. (150 kg ha^{-1}, noculated)	98 a [z]	21 a	19 a	3.43 a	5.01
2. (100 kg ha^{-1}, inoculated)	93 b	19 abc	18 a	3.21 b	4.69
3. (75 kg ha^{-1}, inoculated)	92 bc	20 ab	19 a	3.12 bc	4.56
4. (0 kg ha^{-1}, inoculated)	89 c	17 c	16 b	2.97 c	4.33
5. (150 kg ha^{-1}, uninoculated)	93 b	20 ab	18 ab	3.15 bc	4.59
6. (100 kg ha^{-1}, uninoculated)	93 b	19 ab	19 a	3.12 bc	4.56
7. (75 kg ha^{-1}, uninoculated)	92 bc	21 a	19 a	3.06 bc	4.47
8. (0 kg ha^{-1}, uninoculated)	90 bc	18 bc	17 ab	2.97 c	4.34

[z] Means within a column followed with the same letters are not significantly different at 5% level by LSD test.

引用文獻

1. Bashan,Y., and G. Holguin.1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). Can. J. Microbiol., 43:103-121.
2. Bashan, Y., and L. E. de-Bashan. 2010. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth. A critical assessment. Advances in Agronomy, 108:77-136.
3. Döbereiner J., and F. O. Pedrosa. 1987. Nitrogen-fixing bacteria in nonleguminous crop plants. Science Tech. Springer Verlag, Madison. p.1-155 (Brock/Springer series in contemporary bioscience).
4. Fabricio, C., and D. Z. Martin. 2016. *Azospirillum* sp.in current agriculture: From the laboratory to the field. Soil Biology & Biochemistry, 103:117-130.
5. Okon, Y., and C. Labandera-González, 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. Soil Biol. Biochem., 26: 1591-1601.
6. Reinhold, B., T. Hurek, E.G. Niemann, and I. Fendrik. 1986. Close association of *Azospirillum* and diazotrophic rods with different root zones of kallar grass. Appl. Environ. Microbiol., 52(3):520-526.
7. Rodrigues A. C., A. Bonifacio, F. F. de Araujo, M. A. L. Junior, and M. do V. B. Figueiredo. 2015. *Azospirillum* sp. as a Challenge for Agriculture. Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. p. 29-51.
8. Sivaskthivelan, P., and P. Saranraj. 2013. *Azospirillum* and its formulations: A review. International Journal of Microbiological Research, 4 (3):275-287.
9. Tien, T., M. Gaskins, and D. Hubbell. 1979. Plant Growth Substances Produced by *Azospirillum* brasilense and Their Effect on the Growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum* L.). Applied and Environmental Microbiology, 37:1016-1024.
10. http://microbiology.scu.edu.tw/MIB/micro/bacteria/A13.htm.

The Research of the Effect of *Azospirillum* sp. Inoculant on the Seedling, Growth and Yield of Organic Rice

Ming-Hui Chang[1*], Shiuan-Yuh Chien [2], Chin-Man Cheng[3]

Summary

The objective of this plan is to assess the effect of *Azospirillum* sp. inoculum on the rice seedling and the growth and yield of organic rice in the field. The rice seedling's experiment was performed on the seedling trays in the first and second crop, respectively. The treatments of rice seeds were steeped in different concentrations of *Azospirillum* sp. inoculum (10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} and control). The results of rice seedlings showed the root length of treatment with *Azospirillum* sp. inoculum was obviously higher than the control without inoculum in the first crop. Additionally, the rice seedlings with *Azospirillum* sp. inoculum diluted to 10^{-2} and without inoculum were chosen for the field experiments, and the results showed the height of treatment with inoculum for applying 75 kg and 0 kg of nitrogen per hectare were about 112 cm and 104 cm, respectively in the first crop that were higher than without inoculum (108 cm, 100 cm). Additionally, there was a tendency that the tiller numbers and panicle numbers treated with inoculum were also slightly higher than without inoculum. Moreover, the dry weight of rice straw per plant of treatment with inoculum and applied 75 kg of nitrogen per hectare was about 75g that was also higher than control (49 g). In the

[*] Corresponding author, e-mail: mhchang@tari.gov.tw

[1] Assistant Researcher, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[2] Former Researcher, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[3] Research Assistant, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

second crop, the plant height applied 150 kg of nitrogen per hectare and adding inoculum was about 98 cm that was higher than without inoculum (93 cm), and the dry grain yield of rice straw per 100 plants was about 3.43 kg that was significantly higher than control (3.15 kg). That was, the treatment applied 150 kg of nitrogen per hectare and with inoculum was about 5.01 ton that was higher than control (4.59 ton) about 9.1%.

Keywords: *Azospirillum* spp., Organic rice, Inoculant.

生物炭施用對蘿蔓萵苣生長、土壤理化性質及土壤微生物之影響

林素禎 [1,*]、彭聖宸 [2]、林姿君 [3]、張耀聰 [4]

摘要

生物炭已被廣泛運用作為土壤添加劑，但生物炭仍有負面影響之報導，本文探討生物炭施用後對蘿蔓萵苣生長、土壤理化性質與土壤微生物群落組成及多樣性之影響。本試驗於 2018 年 3 月進行。試驗地點在高雄區農業改良場，試驗作物為蘿蔓萵苣，生物炭種類為木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭，生物炭施用量每公頃 20 噸。田間試驗主要由高雄區農業改良場規劃管理，農試所負責在蘿蔓萵苣種植前與採收後檢測土壤之理化性質與分析土壤之微生物群落組成及多樣性。試驗結果顯示：(1) 施用木炭可增加蘿蔓萵苣產量 24%，而施用稻穀燻炭與稻穀炭灰會降低蘿蔓萵苣產量，分別降低產量 29%與 60%。(2) 施用木炭及稻殼灰炭可提高土壤 pH 值。(3) 施用木炭、稻殼燻碳及稻殼灰炭皆可提高土壤有效性鉀含量。(4) 施用木炭可顯著降低有效性鐵與銅含量。(5) 施用木炭、稻殼燻碳及稻殼灰炭可降低土壤 DNA 含量。(6) 施用木炭可顯著提高底土微生物碳源的利用率。(7) 施用木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭可降低土壤總細菌數、游離性固氮菌數及溶磷菌數。(8) 施用稻殼燻炭與稻殼灰炭可提高子囊菌的數量。

關鍵字：生物炭、蘿蔓萵苣、土壤理化性質、生物多樣性

前言

生物炭是一種土壤改良劑，具有改良退化土壤的健康與肥力之潛力。這些效益來自於增進土壤團粒，增加土壤的飽水能力，改良土壤的碳含量，以及提升植

---

[*] 通訊作者：linmay@tari.gov.tw

[1] 農委會農業試驗所農業化學組助理研究員。台灣 台中市。

[2] 農委會農業試驗所農業化學組計畫助理。台灣 台中市。

[3] 農委會農業試驗所農業化學組計畫助理。台灣 台中市。

[4] 農委會高雄區農業改良場副研究員。台灣 屏東縣。

物可吸收的養分與植物的生質量等 (Biederman & Harpole 2013)。生物炭可控制土壤病害、可做為微生物菌劑之載體、可吸附毒素；在大部分的研究中，生物炭的添加可增加微生物生物量(biomass)、改變微生物群落組成及酵素活性；有些研究指出，生物炭的添加會降低叢枝菌根菌的數量 (Lehmann *et al*. 2011)。在沙漠土壤中添加棉花秸稈生物炭 (4.5 t ha^{-1})，可增加細菌與放線菌族群、增加微生物生物量、增加磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acid) 的濃度、增加碳基質的利用及酵素的活性(Liao *et al*. 2016)。

雖然生物炭已被廣泛運用作為土壤添加劑，但生物炭仍有負面影響之報導，例如：降低土壤團粒結構 (Kelly *et al*. 2015)，減少土壤中有益微生物 (Busscher *et al*. 2011)，降低作物產量 (Deenik *et al*. 2010) 等，這些報導指出，同一種生物炭無法適合所有的土壤類型。本文探討台灣地區常用的三種農用生物炭(木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭)施用後對蘿蔓萵苣生長、土壤理化性質、土壤微生物群落組成及多樣性之影響。

材料與方法

田區規劃與試驗處理：本試驗主要由高雄區農業改良場負責田區規劃及管理，而農業試驗所負責在蘿蔓萵苣種植前與採收後檢測土壤理化性質與分析土壤之微生物群落組成及多樣性。試驗地點在高雄區農業改良場，試驗田區面積為 100 m^2，試驗處理為：(1) 對照組，不施用生物炭，(2) 施用木炭，(3) 施用稻殼燻炭，(4) 施用稻殼灰炭，每種生物炭施用量皆為 20 Mg ha^{-1}。每處理各有 3 畦，每畦各種 5 行蘿蔓萵苣，種植行株距為 20 cm × 20 cm。

試驗作物：試驗作物為蘿蔓萵苣(*Lactuca sativa*)，一年生草本植物，發芽適溫為 15–25℃，生長適溫為 15–30℃，植株株形直立，葉片鮮綠有光澤。種子購自農友種苗公司，以 128 孔穴盤育苗，育苗 14 d 後移植至田間種植，定植 35 d 後採收，調查產量。

生物炭理化性質分析：生物炭種類有木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭。木炭為高雄區農業改良場行道樹修剪後之枝條經該場場區內之高溫爐 500–600℃燒製而成。稻殼燻炭與稻殼灰炭外購而得。生物炭之酸鹼度(pH 值)、電導度(EC 值)測定方法為生物炭與水重量比 1:5，以酸鹼度測定儀及電導度測定儀檢測之。生物炭之

全碳含量與全氮含量以元素分析儀檢測。有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳含量以二酸(硝酸與過氯酸)分解後，以感應耦合電漿分析儀 (Inductively coupled plasma spectrometry，ICP) 測定。生物炭之鈉含量以 0.1N HCl 抽出後，以 ICP 測定。重金屬銅、鋅、鎘、鉻、鎳、鉛、砷、汞含量以微波消化法檢測。生物炭的重金屬含量由農業試驗所檢測，其他理化性質分析則由高雄區農業改良場檢測。

生物炭施用對土壤理化性質之影響：蘿蔓萵苣種植前，先施用生物炭，生物炭灑施後進行耕犁做畦，在耕犁 2 天後進行土壤取樣，並在蘿蔓萵苣採收後亦進行土壤樣品取樣，土壤樣品陰乾後進行理化性質分析，土壤理化性質包括土壤 pH 值、EC 值、質地、有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅與硼含量。土壤 pH 值測定方法為土水重量比 1 : 1，EC 值測定方法為土水重量比 1 ： 5，以酸鹼度測定儀及電導度測定儀檢測之。土壤質地以粒徑分析儀分析。有機質以總有機碳分析儀測定後換算為有機質含量。無機態氮含量先用 2M KCl 抽出後以自動分析儀測定。有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅、硼含量以 Mehlich–3 method 抽出後，以感應耦合電漿分析儀 (Inductively coupled plasma spectrometry，ICP) 測定。每一試驗處理採 3 點，每一點採表土 (0-20 cm) 與底土 (20-40 cm) 兩層土壤進行上述理化性質分析。

生物炭施用對土壤微生物 DNA 總量之影響：秤取 10 g 新鮮土壤樣品測定土壤水分含量，接著以商品化 DNA 萃取試劑組(DNeasy® PowerSoil® Kit)抽取新鮮土壤樣品 DNA，土壤 DNA 萃取方法如下：秤取 0.25 g 已過篩 (網篩口徑 0.5mm)新鮮土壤樣品，加入 PowerBead Tubes 中，輕輕的上下混合均勻。檢查 Solution C1 是否有沉澱物，如有沉澱物，將 Solution C1 放置 60℃水浴槽中，直到沉澱完全溶解，並混合均勻。加入 60 µL Solution C1 於 PowerBead Tubes 中，輕輕的上下混合均勻。固定 PowerBead Tubes 於水平式震盪懸浮器上（VORTEX-GENIE 2），震盪 20 min。將 PowerBead Tubes 放置 55℃水浴槽中 15 min，每 5 min 上下搖晃 10 次混勻。在室溫下，10,000×*g* 離心 2 min。吸取全部的上清液至新的 2 mL Collection Tube，加入 250 µL 的 Solution C2，並懸浮震盪 5 s 後，放置在 4℃冰浴 5 min。室溫下，10,000×*g* 離心 1 min。吸取全部的上層液至新的 2 mL Collection Tube。加入 200 µL Solution C3，並短暫的懸浮震盪，再放置 4℃冰浴 5 min。室溫下，10,000×*g* 離心 2 min。避免吸到雜質，僅吸取 750 µL 的上層液至新的 2 mL Collection Tube。

Solution C4 使用前先混合均勻。混勻後，加入 1200 µL Solution C4 於上層液中，並上下來回搖均勻。將 Spin Filter 置於新的 2 mL Collection Tube 上，再取大約 650 µL 的上層液加到 Spin Filter 上，於室溫下以 10,000×*g* 離心 1 min。離心後，將離心後的下層液倒掉，再重複本步驟 2–3 次，直到加有 Solution C4 的上層液全過濾完畢。再將空管離心一次。加入 500 µL Solution C5，緩慢加入 Spin Filter 上，靜置 1 min。再於室溫下，以 10,000×*g* 離心 1 min。離心後，丟棄下層液。再次離心，室溫下，10,000×*g* 離心 1 min。小心將 Spin Filter 移至新的 2 mL Collection Tube 上，並避免任何 Solution C5 再度噴濺到 Spin Filter 上。於 55℃烘箱乾燥 2 min。吸取 100 µL Solution C6 液體，從 Spin Filter 中央緩緩加入。於 55℃烘箱中加溫 5 min。室溫下，10,000×*g* 離心 1 min。捨棄 Spin Filter，此時 DNA 溶於下層液，接著以超微量核酸偵測儀(Thermo Scientific，NanoDrop One)檢測土壤 DNA 濃度。

以 Biolog EcoPlate^{TM} 進行微生物菌相檢測，探討生物炭施用對土壤微生物碳源的利用率及土壤微生物功能多樣性之影響(Insam 1997；Insam & Goberna 2004)：美國 Biolog 公司生產的微孔盤(microplate)是目前微生物群落多樣性研究的主流方法，可快速分析微生物群落功能性歧異度，得到微生物群落層級生理學分析(Community Level Physiological Profiling，CLPP)。每個 Biolog EcoPlate^{TM} 共有 96 個樣品槽，每 32 個樣品槽為 1 重複，共有 3 重複，包括 1 個空白對照與 31 種碳源。Biolog Ecoplate^{TM} 微生物菌相檢測方法如下：配製無菌生理食鹽水溶液，在 250 mL 三角瓶中加入 95 mL 0.85% NaCl 溶液，以 121℃、1.2 kg cm^{-2} 高溫高壓滅菌 20 min，取出放涼至室溫。秤取 10 g 已過篩 (網篩孔徑 2 mm) 新鮮土壤樣品，倒入上述配製的三角瓶中，並在三角瓶中加入約 20 顆已滅菌直徑 3 mm 玻璃珠。三角瓶以 200 rpm 震盪 60 min 後，儘速進行連續稀釋，避免土壤溶液沉澱。吸取 1 mL 土壤懸浮液加入裝有 9 mL 0.85% NaCl 無菌溶液試管中，充分震盪混合均勻，此為 10^{-2} 稀釋度的土壤溶液。按上述方法繼續稀釋，得 10^{-3} 稀釋度的土壤溶液。10^{-3} 稀釋度的土壤溶液混合均勻以濾紙 (whatman no.1) 過濾，濾液以無菌塑膠培養皿盛裝，方便 8 爪分注器吸取，接種一盤 Ecoplate microplate 約需要 20 mL 濾液。在每一個 Ecoplate 的 well 中，注入 130 µL 10^{-3} 稀釋度之土壤溶液濾液，將 Ecoplate 置於 25℃恆溫箱黑暗培養，以酵素免疫分析儀(Chromate model 4300 microplate reader)在 590 nm 及 750 nm 波長下測定吸光值(OD)，並將 OD_{590} 扣掉 OD_{750} (Wang

et al. 2007)，每 24h 測定一次，直到 120 h。土壤微生物碳源的利用率以 AWCD(average well colour development)表示，土壤微生物多樣性以 Shannon's diversity index(H index)表示，其計算式依序如下：

(1) AWCD (average well colour development) = $\sum_{i=1}^{n} \frac{ODi}{n}$

ODi 為每個時間點下該 well 的 OD_{590}-OD_{750} 讀值，經過扣除空白及三重複平均後的值。

n 為碳源數，Ecoplate 共有 31 種碳源。

(2) Shannon's diversity index (H index) = $-\sum Pi(lnPi)$

Pi 為(正反應 OD 值) / (∑正反應 OD 值)，OD > 0.25 為正反應

生物炭施用對可培養的微生物數量之影響：取 10 g 新鮮土壤樣品，加入裝有 95 mL 無菌水的 250 mL 三角瓶中，以雙層鋁箔紙封口，置於 26℃震盪器中，轉數 200 rpm，震盪 1 h（土壤溶液稀釋度為 10^{-1}）。用手激烈搖晃三角瓶後，在尚未沉澱前，取 1 mL 土壤溶液，加入裝有 9 mL 無菌水的螺旋玻璃試管中，此時螺旋玻璃試管中土壤溶液稀釋度為 10^{-2}。重複上述步驟，取得螺旋試管中土壤溶液稀釋度依序為 10^{-3}、10^{-4}、10^{-5} 與 10^{-6}。培養基中加入約 20 個直徑 3 mm 玻璃珠，依序取適當稀釋度之溶液 100 μL，分別加入細菌、真菌、放線菌、游離性固氮菌及溶磷菌之選擇性培養基中，充分搖動培養基上的玻璃珠，以塗盤均勻。將培養基中之玻璃珠集中、倒出，再以 3M 透氣膠帶封口。培養皿倒放置於 26℃恆溫培養箱中黑暗培養，於第 3 天、第 7 天及第 14 天觀察記錄微生物菌落數。

生物炭施用對顯微鏡直接觀察的土壤微生物數量之影響：秤取 50 g 過篩(篩網孔徑 2 mm)之土壤樣品至燒杯中。以強勢水流沖洗，靜置 20 s 後將上層溶液倒入篩網內，此步驟反覆沖洗三次。上層液倒入的篩網為三層不同網目的篩網組成，篩網孔徑由上至下依序為 60、250 及 500 mesh。將 60 mesh 篩網上的濾篩物洗入燒杯中備用。將 250 及 500 mesh 篩網上的濾篩物洗入離心管中，並用去離子水將所有離心管調至等重。以 1,200×*g* 離心 3 min 後，倒棄上清液。在離心管中加入 40% 糖液，與沉澱物混合均勻後，用糖液將所有離心管調至等重。以 1,200×*g* 離心 2 min，並將上層溶液倒入 500 mesh 篩網內。用水洗下濾篩物，與上述中的 60 mesh 篩網濾篩物一同至顯微鏡下進行觀察。在顯微鏡下計數叢枝菌根菌孢子、線蟲及子囊菌數量，以挑針集中顯微鏡下的叢枝菌根菌孢子，用微量吸管吸取所有的孢

子，把孢子置於載玻片上，加入 Polyvinyl-Lacto-Glycerol (PVLG) 與 Melzer's Reagent 體積比 1：1 之混合染劑染色後，蓋上蓋玻片，在顯微鏡下鑑定叢枝菌根菌菌種名稱。

結果與討論

生物炭理化性質分析：試驗用三種生物炭之理化性質分析結果如表 1，由表 1 可知，木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭之 pH 值依序為 10.5、7.7、10.9，EC 值依序為 5.5、1.7、0.7 mS cm^{-1}，碳含量依序為 50.8%、45.2%、0.69%，氮含量依序為 1.4%、0.6%、0.01%，磷含量依序為 0.35%、0.1%、0.14%，鉀含量依序為 2.9%、1.3%、1.0%，鈣含量依序為 2.38%、0.22%、0.16%，鎂含量依序為 4910、919、625 mg kg^{-1}，鈉含量依序為 666、304、185 mg kg^{-1}。木炭除了錳含量與鉻含量外，其他的元素含量皆為三種生物炭中最高者，而稻殼灰炭大部分的營養元素含量較少。三種生物炭之八種重金屬(銅、鋅、鎘、鉻、鎳、鉛、砷、汞)含量皆不高，皆未超過農糧署固態有機質肥料有害成分上限規定。木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭之 C/N 比依序為 36，76、53。

表 1. 試驗用生物炭理化性質分析

Table 1. Physical-chemical property analysis of biochars

生物炭種類	pH ^{z} (1：5)	EC ^{z} (mS cm^{-1})	C ^{y} (%)	N ^{y} (%)	C/N	P ^{y} (%)	K ^{y} (%)	Ca ^{y} (%)	Mg ^{y} (mg kg^{-1})	Na ^{y} (mg kg^{-1})
木炭	10.5	5.5	50.8	1.4	36	0.35	2.9	2.38	4910	666
稻殼燻炭	7.7	1.7	45.2	0.6	76	0.10	1.3	0.22	919	304
稻殼灰炭	10.9	0.7	0.69	0.01	53	0.14	1.0	0.16	625	185

^{z} pH與電導度(EC)測定時，生物炭與水分比率為重量比1:5。

^{y} 生物炭中元素之總含量。

表 1. 試驗用生物炭理化性質分析 (續)

Table 1. Physical-chemical property analysis of biochars (cont'd) Unit：mg kg^{-1}

生物炭種類	Fe ^{y}	Mn ^{y}	As ^{y}	Cd ^{y}	Cr ^{y}	Cu ^{y}	Hg ^{y}	Ni ^{y}	Pb ^{y}	Zn ^{y}
木炭	97	120	2.4	0.089	12	24	0.010	9	6.8	58
稻殼燻炭	96	193	1.0	0.086	8	5	< 0.002	3	0.3	42
稻殼灰炭	91	87	1.2	0.005	30	7	< 0.002	4	0.2	18

^{y} 生物炭中元素之總含量。

土壤理化性質分析：蘿蔓萵苣種植前之土壤理化性質分析如表 2，由表 2 可知，試驗田土壤所有處理之表土與底土質地皆為砂質壤土。施用木炭可顯著提高表土與底土 pH 值及有效性鉀含量，但顯著降低表土與底土有效性銅含量，而對有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、鐵、錳、硼及鋅含量影響不顯著。

表 2. 蘿蔓萵苣種植前試驗田土壤理化性質分析

Table 2. Analysis of physical-chemical property of field soil prior experiment

處理	土壤深度 (cm)	pH (1：1)	EC(1:5) (μS cm^{-1})	質地	OM (g kg^{-1})	N (mg kg^{-1})	P (mg kg^{-1})	K (mg kg^{-1})
對照組	0-20	7.7 bc [z]	245 a	SL	29.3 a	47 a	157 a	153 b
木炭	0-20	8.2 a	341 a	SL	17.2 a	62 a	138 a	538 a
稻殼燻炭	0-20	7.9 ab	363 a	SL	36.4 a	36 a	187 a	393 a
稻殼灰炭	0-20	8.1 a	281 a	SL	29.7 a	25 a	178 a	435 a
對照組	20-40	7.5 c	198 a	SL	28.1 a	41 a	136 a	121 b
木炭	20-40	8.2 a	306 a	SL	20.9 a	45 a	129 a	533 a
稻殼燻炭	20-40	7.7 bc	217 a	SL	37.3 a	26 a	147 a	357 a
稻殼灰炭	20-40	7.9 ab	211 a	SL	32.4 a	20 a	136 a	392 a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 2. 蘿蔓萵苣種植前試驗土壤理化性質分析 (續)

Table 2. Analysis of physical-chemical property of field soil prior experiment (cont'd)

處理	土壤深度 (cm)	Ca (mg kg^{-1})	Mg (mg kg^{-1})	Fe (mg kg^{-1})	Mn (mg kg^{-1})	B (mg kg^{-1})	Cu (mg kg^{-1})	Zn (mg kg^{-1})
對照組	0-20	3005 a [z]	204 a	331 ab	112 a	1.1 a	39 a	12 a
木炭	0-20	2962 a	225 a	249 b	117 a	1.2 a	6 c	17 a
稻殼燻炭	0-20	3904 a	304 a	326 ab	113 a	1.8 a	24 abc	20 a
稻殼灰炭	0-20	3623 a	316 a	371 a	117 a	1.7 a	18 bc	12 a
對照組	20-40	2850 a	186 a	336 ab	117 a	1.1 a	28 ab	11 a
木炭	20-40	3052 a	220 a	248 b	123 a	1.3 a	6 c	16 a
稻殼燻炭	20-40	3811 a	231 a	359 a	107 a	1.4 a	12 bc	14 a
稻殼灰炭	20-40	2948 a	230 a	414 a	133 a	1.3 a	10 bc	10 a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

施用稻殼燻炭可顯著提高表土與底土有效性鉀含量，而對表土與底土 pH 值、有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅及硼含量影響不顯著。施用稻殼灰炭可顯著提高表土與底土 pH 值及有效性鉀含量，但顯著降低表土有效性銅含量，而對表土與底土有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅及硼含量影響不顯著。蘿蔓萵苣採收後之土壤理化性質分析如表 3，由表 3 可知，木炭施用可顯著提高表土與底土 pH 值及有效性鉀含量，但顯著降低

表 3. 蘿蔓萵苣採收後試驗土壤理化性質分析
Table 3. Analysis of physical-chemical property of field soil after the harvest of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	pH (1：1)	EC (1:5) (μS cm^{-1})	OM (g kg^{-1})	N (mg kg^{-1})	P (mg kg^{-1})	K (mg kg^{-1})
對照組	0-20	7.6 bc [z]	232 ab	32 ab	47 a	171 bc	114 cd
木炭	0-20	8.0 a	353 ab	28 ab	35 a	128 c	475 a
稻殼燻炭	0-20	7.8 abc	222 ab	45 a	41 a	276 b	228 bc
稻殼灰炭	0-20	7.8 abc	245 ab	35 ab	38 a	164 bc	300 b
對照組	20-40	7.5 c	160 b	21 b	33 a	99 c	83 d
木炭	20-40	7.9 ab	282 ab	29 ab	53 a	146 bc	311 b
稻殼燻炭	20-40	7.8 abc	391 a	36 ab	31 a	439 a	229 bc
稻殼灰炭	20-40	7.7 abc	185 ab	27 b	21 a	94 c	204 bc

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 3. 蘿蔓萵苣採收後試驗土壤理化性質分析 (續)
Table 3. Analysis of physical-chemical property of field soil after the harvest of Romaine lettuce (cont'd)

處理	土壤深度 (cm)	Ca (mg kg^{-1})	Mg (mg kg^{-1})	Fe (mg kg^{-1})	Mn (mg kg^{-1})	B (mg kg^{-1})	Cu (mg kg^{-1})	Zn (mg kg^{-1})
對照組	0-20	3023 ab [z]	215 abc	325 b	115 cd	1.3 ab	76 a	16 abc
木炭	0-20	3537 ab	283 ab	226 c	119 bcd	1.6 ab	8 b	21 ab
稻殼燻炭	0-20	4111 a	293 a	343 ab	118 bcd	2.2 a	35 b	26 a
稻殼灰炭	0-20	3439 ab	286 ab	373 ab	132 bc	1.8 ab	33 b	13 bc
對照組	20-40	2261 b	143 c	310 bc	138 ab	0.7 b	26 b	9 c
木炭	20-40	3229 ab	232 abc	290 bc	117 bcd	1.8 ab	7 b	15 abc
稻殼燻炭	20-40	4055 a	213 abc	417 a	105 d	1.5 ab	23 b	23 ab
稻殼灰炭	20-40	2568 b	190 bc	370 ab	159 a	1.0 b	15 b	9 c

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表土有效性鐵與銅含量，而對有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、錳、硼、鋅含量影響不顯著。稻殼燻炭可顯著提高底土 EC 值、有效性磷、鉀、鈣、鐵、鋅含量，但顯著降低表土有效性銅含量與底土有效性錳含量，而對表土與底土 pH 值、無機態氮含量、有效性鎂、硼含量影響不顯著。稻殼灰炭施用可顯著提高表土與底土有效性鉀含量，但顯著降低表土有效性銅含量，而對表土與底土 pH 值、有機質含量、無機態氮含量、有效性磷、鈣、鎂、鐵、錳、鋅及硼含量影響不顯著。

蘿蔓萵苣產量調查：蘿蔓萵苣定植 35 d 後採收並調查產量。採收時調查每畦蘿蔓萵苣鮮重，調查結果如表 4 所示，由表 4 可知，施用木炭可增加蘿蔓萵苣產量 24%，而施用稻穀燻炭與稻穀炭灰會降低蘿蔓萵苣產量，分別降低 29%與 60%。蘿蔓萵苣的產量與蘿蔓萵苣種植前表土無機態氮含量最有直接的關係，蘿蔓萵苣種植前三種生物炭表土土壤中無機態氮含量依序為 47、62、36、25 mg kg^{-1}(如表 2)，蘿蔓萵苣的產量與蘿蔓萵苣種植前表土無機態氮含量相關係數(r)＝0.99，達顯著相關(P＜0.05)。木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭的總氮含量依序為 1.4%、0.6%、0.01%，木炭中含有較高的總氮含量，且木炭的 C/N 比 32 不高，由木炭分解所釋出的氮肥可提供蘿蔓萵苣生長所需，故施用木炭可增加蘿蔓萵苣生長。而稻殼燻炭與稻殼灰炭的總氮含量較低，且其 C/N 比較高，依序為 76、53，這兩種生物炭分解時需要再外加氮肥才能順利分解，所以會與蘿蔓萵苣競爭氮肥，造成蘿蔓萵苣產量下降。

生物炭施用對土壤微生物 DNA 總量、碳源利用率及微生物多樣性之影響：蘿蔓萵苣種植前，施用木炭可顯著降低表土與底土土壤 DNA 含量，而施用稻殼灰炭

表 4. 不同種類生物炭施用對蘿蔓萵苣產量之影響

Table 4. Influence of various biochar application on the crop yield of Romaine lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*)

處理	蘿蔓萵苣鮮重 (Kg / 0.1 ha)	相對生長量 (%)
對照組	3324 ± 1919	100
木炭	4124 ± 2381	124
稻穀燻炭	2343 ± 1353	71
稻穀炭灰	1332 ± 769	40

可顯著提高表土 DNA 含量(表 5)。在蘿蔓萵苣採收後，施用木炭與稻殼燻炭皆可顯著降低表土 DNA 含量，而施用稻殼燻炭與稻殼灰炭可顯著降低底土 DNA 含量(表 5)。在大部分的研究中，生物炭的添加可增加微生物生物量(biomass)，而本文中施用木炭、稻殼燻炭與稻殼灰炭皆會降低土壤 DNA 含量，這可能因本文中的試驗土壤為中性到微鹼性土壤(pH 值 7.5–7.7)，而施用強鹼性的木炭(pH 值 10.5)、稻殼灰炭(pH 值 10.9)及 C/N 比高的稻殼燻炭(C/N＝76)，不利多數的微生物生長而使土壤 DNA 含量降低。

在蘿蔓萵苣種植前，施用稻殼燻碳可顯著提高表土土壤微生物碳源的利用率，而在蘿蔓萵苣採收後，木炭施用可顯著提高底土土壤微生物碳源的利用率(表 6)。在蘿蔓萵苣種植前與採收後，三種生物炭對表土與底土土壤微生物多樣性皆無顯著影響(表 6)。土壤生物多樣性是土壤品質的一個指標，有較高物種多樣性的土壤，在養分循環，有機物同化及土壤結構維持等方面的土壤穩定性較高。有機質是大多數土壤生物的能量、營養和棲息地的主要來源，具有高有機質含量的土壤能夠支持更大的植被多樣性，進而增加有機質含量和有機碳含量，同時增強土壤生物多樣性。本文中三種生物炭對試驗土壤的有機質含量影響不大，故使三種生物炭施用對土壤微生物多樣性皆無顯著影響。

生物炭施用對可培養的微生物數量之影響：在蘿蔓萵苣種植前，施用木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭皆可顯著降低表土土壤總細菌數及游離性固氮菌數 (表 7)，而

表 5. 蘿蔓萵苣種植前後土壤 DNA 含量變化
Table 5. The changes of soil DNA content prior- and post-growth of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	種植前土壤 DNA 含量 (μg/ 1g dry soil)	種植後土壤 DNA 含量 (μg/ 1g dry soil)
對照組	0-20	12.5 ± 2.3 b	16.0 ± 1.4 a
木炭	0-20	8.3 ± 0.4 c	8.4 ± 1.3 d
稻殼燻炭	0-20	13.5 ± 1.0 b	11.9 ± 0.7 b
稻殼灰炭	0-20	16.8 ± 2.7 a	14.3 ± 0.9 a
對照組	20-40	12.3 ± 1.6 b	11.3 ± 0.3 b
木炭	20-40	9.0 ± 0.8 c	10.5 ± 0.3 bc
稻殼燻炭	20-40	14.4 ± 1.0 ab	9.6 ± 1.1 cd
稻殼灰炭	20-40	14.4 ± 2.3 ab	9.7 ± 1.1 cd

z Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher’s protected LSD test.

施用木炭與稻殼灰炭可顯著降低表土總溶磷菌數，各處理之總放線菌數與總真菌數無顯著差異。在蘿蔓萵苣採收後，施用木炭、稻殼燻炭及稻殼灰炭皆可顯著提高表土總真菌數 (表 8)，而施用木炭亦可顯著提高底土總真菌數，但顯著降低表土游離性固氮菌數及底土游離性固氮菌數。施用稻殼灰炭可顯著降低表土總放線菌數，及顯著降低表土與底土之游離性固氮菌數及總溶磷菌數。

表 6. 生物炭施用與蘿蔓萵苣種植對土壤微生物碳源利用率及多樣性之影響

Table 6. The influence of biochar application and the growth of Romaine lettuce on the utilization rate of carbon sources and the biodiversity of soil microbes

處理	土壤深度	蘿蔓萵苣移植前		蘿蔓萵苣採收後	
		AWCD [z]	H index [y]	AWCD [z]	H index [y]
對照組	0-20	0.48 b [x]	2.88 a	0.40 abc	2.82 a
木炭	0-20	0.46 b	2.96 a	0.41 abc	2.85 a
稻殼燻炭	0-20	0.73 a	3.13 a	0.43 ab	2.84 a
稻殼灰炭	0-20	0.38 a	2.72 a	0.36 bc	2.77 a
對照組	20-40	0.33 b	2.61 a	0.29 bc	2.56 a
木炭	20-40	0.50 ab	2.82 a	0.55 a	3.04 a
稻殼燻炭	20-40	0.51 ab	2.92 a	0.34 bc	2.76 a
稻殼灰炭	20-40	0.43 b	2.87 a	0.27 c	2.43 a

[z] Ecoplate^{TM}培養72小時，AWCD (Average well color development) =ΣODi/31，ODi = OD_{590}-OD_{750}

[y] Ecoplate^{TM}培養72小時，H-index (Shannon diversity index) = −Σ pi(lnpi)，pi = ODi/ΣODi

[x] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 7. 在蘿蔓萵苣種植前生物炭施用對可培養微生物數量之影響

Table 7. The influence of biochar application on the changes of culturable microbe quantity before the planting of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	總細菌數 Log (cfu/g soil)	總放線菌數 log (cfu/g soil)	總真菌數 Log (cfu/g soil)	總游離固氮菌數 Log (cfu/g soil)	總溶磷菌數 Log (cfu/g soil)
對照組	0-20	8.3 a [z]	6.3 a	4.7 a	8.9 a	6.7 a
木炭	0-20	7.5 c	6.6 a	4.8 a	7.7 c	6.1 b
稻殼燻炭	0-20	7.4 c	6.2 a	4.6 a	7.7 c	6.5 a
稻殼灰炭	0-20	7.8 b	6.2 a	4.8 a	8.0 b	6.1 b
對照組	20-40	7.6 bc	6.6 a	4.7 a	8.0 b	6.5 a
木炭	20-40	7.4 c	6.5 a	4.6 a	7.7c	6.7 a
稻殼燻炭	20-40	7.5 c	6.5 a	4.7 a	7.8 bc	6.5 a
稻殼灰炭	20-40	7.4 c	6.3 a	4.5 a	7.6 c	6.7 a

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

生物炭施用對顯微鏡直接觀察的土壤微生物數量之影響：在蘿蔓萵苣種植前生物炭施用後對土壤中叢枝菌根菌、線蟲及子囊菌孢子數量之影響如表 9，由表 9 中可知，施用木炭可顯著提高表土線蟲數量，但會顯著降低底土子囊菌的數量。施用稻殼燻炭可顯著提高底土線蟲數量及顯著提高表土子囊菌的數量。而施用稻殼灰炭可顯著提高底土叢枝菌根菌數量及顯著提高表土子囊菌的數量。在蘿蔓萵苣採收後生物炭施用對土壤中叢枝菌根菌、線蟲及子囊菌孢子數量之影響如表 10，由表 10 中可知，三種生物炭施用對表土與底土之叢枝菌根菌數量及線蟲數量無顯著影響。施用稻殼燻炭與稻殼灰炭可顯著提高表土子囊菌的數量。試驗土壤

表 8. 蘿蔓萵苣採收後生物炭施用對可培養微生物數量之影響

Table 8. The influence of biochar application on the changes of culturable microbe quantity after the harvest of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	總細菌數 Log (cfu/g soil)	總放線菌數 Log (cfu/g soil)	總真菌數 Log (cfu/g soil)	總游離固氮菌數 Log (cfu/g soil)	總溶磷菌數 Log (cfu/g soil)
對照組	0-20	7.1 ab [z]	7.1 a	4.5 b	7.6 ab	6.8 a
木炭	0-20	7.2 a	6.9 a	4.8 a	7.0 c	7.0 a
稻殼燻炭	0-20	7.1 ab	7.0 a	4.9 a	7.8 a	6.8 a
稻殼灰炭	0-20	7.1 ab	6.5 b	4.8 a	7.0 c	6.2 c
對照組	20-40	6.9 b	6.6 b	4.5 b	7.7 ab	7.0 a
木炭	20-40	7.1 ab	6.8 ab	4.9 a	7.5 b	6.5 b
稻殼燻炭	20-40	6.9 b	6.6 b	4.4 b	7.8 a	6.7 ab
稻殼灰炭	20-40	6.9 b	6.7 ab	4.7 ab	6.8 c	6.2 c

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 9. 在蘿蔓萵苣種植前生物炭施用對土壤中叢枝菌根菌、線蟲及子囊菌孢子數量之影響

Table 9. The influence of biochar application on the populations of arbuscular mycorrhizal fungi, nematodes and ascomycetes before the planting of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	叢枝菌根菌 (spore/100g fresh soil)	線蟲 (spore/100g fresh soil)	子囊菌 (spore/100g fresh soil)
對照組	0-20	15 b [z]	21 bc	279 bc
木炭	0-20	9 b	57 a	173 c
稻殼燻炭	0-20	19 b	47 ab	583 a
稻殼灰炭	0-20	8 b	21 bc	537 a
對照組	20-40	24 b	20 bc	252 bc
木炭	20-40	4 b	23 bc	65 c
稻殼燻炭	20-40	14 b	62 a	433 ab
稻殼灰炭	20-40	91 a	17 c	459 ab

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

中出現的叢枝菌根菌菌種有 *Rhizophagus intraradices* (Fig.1A)、*Acaulospora scrobiculata* (Fig.1B)、*Claroideoglomus etunicatum* (Fig.1C) 及 *Funneliformis mosseae* (Fig.1D)。

表 10. 蘿蔓萵苣採收後生物炭施用對土壤中叢枝菌根菌、線蟲及子囊菌孢子數量之影響
Table 10. The influence of biochar application on the populations of arbuscular mycorrhizal fungi, nematodes and ascomycetes after the harvest of Romaine lettuce

處理	土壤深度 (cm)	叢枝菌根菌 (spore/100g fresh soil)	線蟲 (spore/100g fresh soil)	子囊菌 (spore/100g fresh soil)
對照組	0-20	15 a [z]	192 a	288 c
木炭	0-20	9 a	73 a	217 c
稻殼燻炭	0-20	13 a	74 a	405 b
稻殼灰炭	0-20	32 a	153 a	648 a
對照組	20-40	18 a	17 a	117 c
木炭	20-40	11 a	80 a	175 c
稻殼燻炭	20-40	19 a	345 a	200 c
稻殼灰炭	20-40	44 a	101 a	231 c

[z] Means within each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

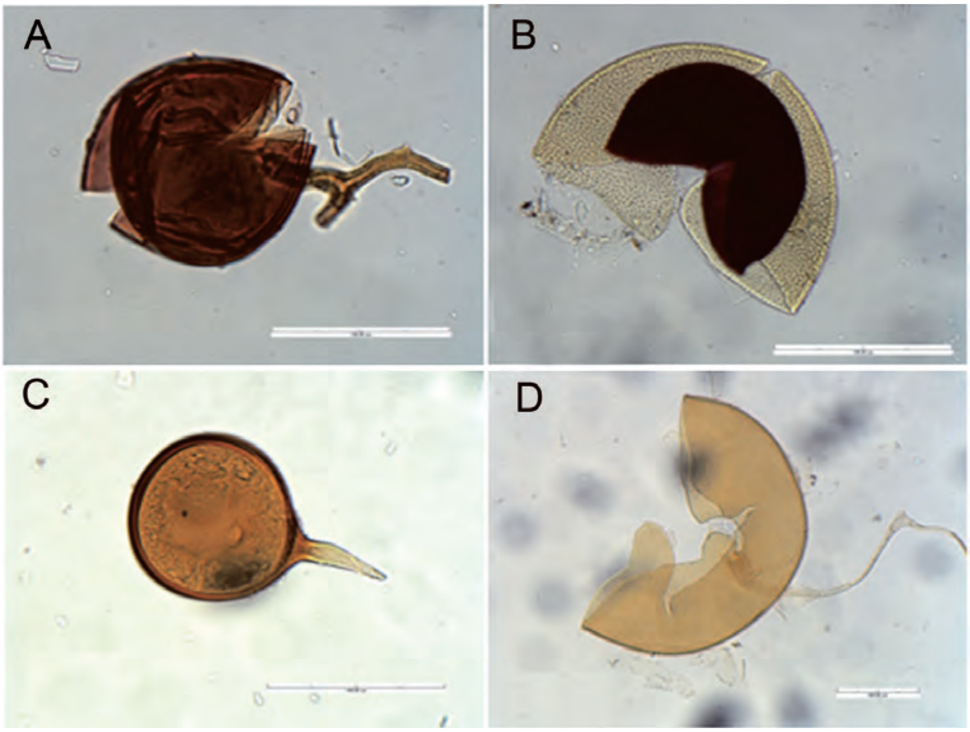


圖 1. 試驗土壤中出現的叢枝菌根菌菌種有 *Rhizophagus intraradices* (A)；*Acaulospora scrobiculata* (B)；*Claroideoglomus etunicatum* (C) 及 *Funneliformis mosseae* (D)。

引用文獻

1. Biederman, L.A. and W.S. Harpole. 2013. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: A Meta-Analysis. GCB Bioenergy 5：202-214.
2. Busscher, W.J., J. M. Novak, M. Ahmedna. 2011. Physical effects of organic matter amendment of a southeastern US coastal loamy sand. Soil Sci. 176：661–667.
3. Deenik, J.L., T. McClellan, G. Uehara, M. J. Antal, and S. Campbell. 2010. Charcoal volatile matter content influences plant growth and soil nitrogen transformations. Soil Sci. Soc. Am. J. 74：1259–1270.
4. Insam, H. 1997. A new set of substrates proposed for community characterization in environmental samples *In*: Insam H, Rangger A (eds) Microbial Community. Springer-Verlag, Berlin. pp. 259–260.
5. Insam, H., and M. Goberna. 2004. Use of Biolog for the community level physiological profiling (CLPP) of environmental samples. p.853-860. In G. A. de Bruijn, F. Head, I. M. Van der Zijpp and A. J. van Elsas (eds.) MolecµLar Microbial Ecology Manual. 2nd ed. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
6. Kelly, C.N., F. C. Calderon, V. Acosta-Martinez, M. M. Mikha, J. Benjamin, D. W. Rutherford, and C. E. Rostad. 2015. Switchgrass biochar effects on plant biomass and microbial dynamics in two soils from different regions. Pedosphere 25：329–342.
7. Lehmann, J., M. Rillig, J. Thies, C. A. Masiello, W. C. Hockaday, and D. Crowley. 2011. Biochar effects on soil biota—a review. Soil Biol. Biochem. 43:1812–1836.
8. Liao, N., Q. Li, W. Zhang, G. Zhou, L. Ma, W. Min, J. Ye, and Z. Hou. 2016. Effects of biochar on soil microbial community composition and activity in drip-irrigated desert soil. European Soil Biol. 72：27–34.
9. Wang, G. H., J. Jin, X. L. Chen, J. D. Liu, X. B. Liu, and S. J. Herbert. 2007. Biomass and catabolic diversity of microbial communities with long-term restoration, bare fallow and cropping history in Chinese Mollisols. Plant Soil Eviron. 53:177-185.

The Influence of Biochar Amendment on the Growth of Romaine Lettuce, the Soil Physical-Chemical Properties and Microbial Flora

Su-Chen Lin[1,*], Shen-Chyu Peng[2], Zi-Jun Lin [3], and Yao-Tsung Chang [4]

Summary

Biochar has been used nationwide as soil amendment; even though there is still some negative effect to the crop growth reported. In this paper, the influence of biochar amendment to the growth of romaine lettuce was explored in terms of soil physical-chemical properties and composition of microbial flora as well as biodiversity. The experiment was conducted in March 2018. Experiment site was located in Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station (KDARES). The test plant was romaine lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*). The biochar included charcoal, carbonized rice husk and rice husk ash. Field trial plots were designed and managed by KDARES. Biochar was incorporated 20 tons per hectare. Soil samples were collected before planting and after harvest separately for the related analyses. The test results indicated that (i) charcoal amendment could increase crop yield 24%; carbonized rice husk and rice husk ash decrease crop yield 29% and 60% respectively, (ii) charcoal and rice husk ash could enhance soil pH, (iii) all of tested biochar could increase soil available potassium, (iv) charcoal amendment could significantly lower the

[*] Corresponding author, e-mail: linmay@tari.gov.tw

[1] Assistant Researcher, AgricµLtural Chemistry Division, Taiwan AgricµLture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[2] Research Assistant, AgricµLtural Chemistry Division, Taiwan AgricµLture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[3] Research Assistant, AgricµLtural Chemistry Division, Taiwan AgricµLture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[4] Associate Researcher, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Pingtung, Taiwan, ROC.

quantity of available irons and coppers, (v) all of tested biochar could lower the DNA quantity in soil, (vi) charcoal amendment could enhance significantly microbial carbon utilization rate in subsoil, (vii) all of biochar amendment could lower total bacterial, free-living nitrogen fixing bacterial and phosphate-solubilizing bacterial counts, (viii) amendment of carbonized rice husk and rice husk ash could promote the quantity of ascomycetes.

Key words: Biochar, *Lactuca sativa*, Romaine lettuce, Soil physical-chemical Properties, Biodiversity.

國家圖書館出版品預行編目(CIP)資料

溶磷菌肥料肥 (功) 效評估及驗證研討會專刊 / 林素禎等主編. -- 初版. -- 臺中市：農委會農業試驗所, 民 108.12

面 ：19*26 公分 (農業試驗所特刊；第 226 號)

ISBN 978-986-5440-51-0 (平裝)

1.肥料　2. 文集

434.23407　　　　108021703

編　　號：農業試驗所 2019 年 012 號
書　　名：溶磷菌肥料肥 (功) 效評估及驗證研討會專刊
發 行 人：林學詩
主　　編：林素禎、顏淑菁、林姿君、郭鴻裕
出版機關：行政院農業委員會農業試驗所
地　　址：臺中市霧峰區萬豐里中正路 189 號
網　　址：http://www.tari.gov.tw
電　　話：（04）23302301
出版年月：108 年 12 月
版　　次：初版
展售門市：1. 行政院農業委員會農業試驗所圖書館　(04)23317035
　　　　　2. 國家書店 / 104 臺北市松江路 209 號 1 樓　(02)25180207
　　　　　　國家網路書店 http://www.govbooks.com.tw
　　　　　3. 五南文化廣場 / 400 臺中市中山路 6 號　(04)22260330
定　　價：新台幣 350 元(平裝)
承 印 者：學安文化事業有限公司
地　　址：臺中市南區仁和二街 78 號
電　　話：（04）22861600

ISBN: 9789865440510 (平裝)
GPN: 1010802530
版權所有、轉載須經本所同意